

Priscila Nehring

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E
COMPOSTOS FENÓLICOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE
MATURAÇÃO DA GRUMIXAMA (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos da
Universidade Federal de Santa
Catarina, como requisito final para
a obtenção do título de Mestre em
Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Dra. Roseane Fett

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Nehring, Priscila

Avaliação da capacidade antioxidante e compostos
fenólicos em diferentes estádios de maturação da grumixama
(Eugenia brasiliensis Lamarck) / Priscila Nehring ;
orientadora, Roseane Fett - Florianópolis, SC, 2016.
133 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós
Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos Alimentos. 2. Compostos bioativos. 3.
Estádios de maturação. 4. Grumixama. 5. Eugenia
brasiliensis Lamarck. I. Fett, Roseane . II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos. III. Título.

**AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E
COMPOSTOS FENÓLICOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE
MATURAÇÃO DA GRUMIXAMA (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)**

Por

Priscila Nehring

Esta **Dissertação** foi julgada adequada para obtenção do Título de **Mestre** “em Ciência dos Alimentos”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 15 de fevereiro de 2016

Prof.(a). Dr.(a). Roseane Fett
Coordenador

Banca Examinadora:

Prof.(a). Dr.(a). Roseane Fett
Orientador (UFSC)

Prof.(a). Dr.(a). Francilene Gracieli Kunradi Vieira
Membro (UFSC)

Prof.(a). Dr.(a). Jane Mara Block
Membro (UFSC)

Prof.(a). Dr.(a). Carmen Maria Olivera Müller
Membro (UFSC)

DEDICATÓRIA

*A minha querida mãe, Eraide, por
sempre estar ao meu lado, pelo
incentivo e apoio dado para ir atrás
dos meus sonhos e me ensinar que a
fé em Deus é caminhar sabendo que
Ele sempre tem o melhor para
nossas vidas!*

“Tudo posso naquele que me fortalece.” Filipensis 4:13

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, por tudo o que fez na minha vida, pela força e fé Nele;

Aos meus queridos pais, Leonardo Nehring e Eraide Neckler Nehring, pelo apoio e ajuda prestada durante toda a caminhada, em especial a minha mãe, por sempre estar ao meu lado, torcer sempre por mim, incentivar na realização dos meus sonhos e que mesmo de longe, pelas orações e por ser minha grande amiga;

A minha irmã Raisa Nehring Klava e meu cunhado Ricardo Klava por confiar em mim, pelas palavras de incentivo e agradecer ao meu sobrinho Carlos Eduardo Nehring, que com seu sorriso e alegria, sempre lembrava com muito carinho;

A minha orientadora Roseane Fett, por ter aberto as portas do laboratório e participar do grupo de pesquisa, pelos conselhos e apoio durante a caminhada;

Ao técnico de laboratório, Luciano Valdemiro Gonzaga, pelos ensinamentos e sábios conselhos que muito contribuíram para a realização deste trabalho;

A todos meus tios, avós e primos da família Neckler e Nehring, pelo apoio, carinho, orações e mensagens que sempre estiveram em contato mesmo de longe, torcendo por mim;

A minha amiga Thaise Paludo Severo, que com suas palavras sempre estive ao meu lado me fortalecendo e lembrando que mesmos distantes, sempre pude contar com suas palavras sábias e amizade tão importante para mim;

Ao meu amigo Pedro Henrique dos Santos, pelas conversas e cafés, pela companhia e amizade desde o tempo da graduação;

A minha amiga Narjane Roberta Kirst, pela companhia, pela amizade que temos e principalmente pelas palavras sábias quando conversávamos e por saber que nos tornamos mais que amigas, grandes irmãs;

As minhas amigas Laís Santin, Heloísa Battistella e Emanuelle Aline Aguiar Meneghetti pelo carinho e pelas mensagens de incentivo;

Ao Laboratório Química de Alimentos (LabQA), professora Dra. Ana Carolina de Oliveira Costa e colegas de laboratório Andressa Camargo Valse, Fabíola Carina Biluca, Mônia Stremel Azevedo, Greici Bergamo, Roberta Garcia Barbosa, Francieli Braghini, Priscila Missio da Silva por todas as palavras de incentivo, companheirismo no dia a dia. Em especial, a Mayara Schulz, Siluana Katia Tischer Seraglio e Fabiana Della Betta, pelo acompanhamento mais de perto, contribuindo com idéias e sugestões para a realização deste estudo;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

O Brasil possui uma ampla diversidade de frutas nativas devido a sua grande extensão territorial. Entre elas destaca-se a grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck), fruto nativo da mata Atlântica. Considerando a escassez de estudos sobre os compostos nutricionais e bioativos que definam o estágio de maturação ideal para a colheita dos frutos, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização química, nutricional e capacidade antioxidante em diferentes estádios de maturação dos frutos de grumixama em duas regiões de cultivo do Estado de Santa Catarina, Florianópolis e São Ludjero. O estudo também buscou definir o melhor solvente e mecanismo de extração para quantificação de fenólicos totais (FT), capacidade antioxidante (CA) e o melhor solvente extrator para antocianinas monoméricas totais (AMT). Dos parâmetros analisados através dos métodos na AOAC, os teores de umidade e resíduo mineral fixo não apresentaram oscilações no decorrer da maturação, já para a proteína bruta apresentaram comportamentos distintos entre os estádios nas duas regiões. A concentração dos açúcares, minerais e o perfil dos ácidos orgânicos analisados por eletroforese capilar mostraram que as concentrações dos açúcares glicose e frutose aumentaram no decorrer da maturação dos frutos nas duas regiões. Considerando a concentração dos minerais maiores níveis foram observadas nos estádios 1 e 2 das duas regiões de cultivo. O perfil dos ácidos orgânicos apresentou variações durante a maturação, sendo os ácidos majoritários no estágio final o cítrico e o málico. Na análise de FT pelo método colorimétrico de Folin Ciocalteu e de CA pelo método de captura do radical livre DPPH o solvente acetona/água (80:20, v/v) e o mecanismo de extração por agitação magnética foram os mais eficientes no sistema de extração. O etanol/HCl 1,5 M foi o melhor solvente extrator para AMT. No decorrer da maturação dos frutos o conteúdo de FT apresentou maiores valores no estágio 2 e para os taninos condensados no estágio 3, nas duas regiões. Para AMT os maiores valores foram encontrados no estágio 3 na região A e nos estádios 2 e 3 para a região B. A maior capacidade antioxidante foi observada no estágio 2 através do método DPPH e no estágio 3 pelo método FRAP na região A. Já para a região B os maiores valores foram no estágio 3 para ambos os métodos aplicados. Os compostos fenólicos identificados por HPLC-ESI-MS/MS totalizaram 19 compostos, sendo o p-cumárico, catequina, quercetina, taxifolina e isoquercetina encontrados na forma livre e conjugada em todos os estádios de maturação das duas regiões. Os resultados mostraram que as maiores

concentrações de compostos bioativos foram observadas nos estádios 2 e 3 indicando a influência da maturação dos frutos.

Palavras-chave: *Eugenia brasiliensis* Lamarck. Grumixama. Compostos bioativos. Capacidade antioxidante. Maturação.

ABSTRACT

Due to its large territory, Brazil has a wide variety of native fruits. Among them the grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) stands out, a native fruit from Atlantic Forest. Concerned to the limited number of studies on nutritional and bioactive compounds, which define the ideal maturity stage for the fruits harvesting this study aimed to characterize the chemical, nutritional and antioxidant capacity in different stages of grumixama's fruits maturity realized in two regions of Santa Catarina State, Florianópolis and São Ludjero. Furthermore, the research attempt to define the best solvent and extraction mechanism to quantify total phenolics (FT), antioxidant capacity (AC) and the ideal extraction solvent for total monomeric anthocyanins (AMT). Over the parameters analyzed through the AOAC methods the moisture content and the ashes had not presented any variation during ripening process, and the crude protein had revealed different behavior between the stages in the two regions. The sugars and minerals concentration and the organic acids profile analyzed through the capillary electrophoresis reveal the increase of the sugars glucose and fructose concentration during ripening process in both regions. Considering to the minerals concentration highest numbers were observed on stages 1 and 2 in both cultivated regions. The organic acids profile reported oscillation during ripening process, which the majority acids at the final stage were citric and malic. Concerning to the FT analysis by Folin Ciocalteu colorimetric method and the AC analysis by free radical DPPH capture method the solvent acetone / water (80:20, v / v) and the extraction magnetic stirrer were the most efficient extractor system. Ethanol / HCl 1.5 M was the most excellent extraction solvent for AMT. During the fruit ripening process the FT content indicated higher numbers in the stage 2 and for the condensed tannins in the stage 3, both regions. Regarding to the AMT, highest numbers were found on stage 3 in the region A, and stages 2 and 3 in the region B. The highest antioxidant capacity was observed in the stage 2 through DPPH, and the stage 3 by FRAP method in the region A. In regard to the region B the highest numbers were in the stage 3 for both methods applied. Phenolic compounds identified through HPLC-ESI-MS / MS reached 19 compounds, which p-coumaric, catechin, quercetin, taxifolin and isoquercetin were found in free and conjugated form during the whole ripening process stages in both regions. The results had indicated the bioactive compounds major concentrations were observed in the stages 2 and 3 indicating the influence of ripening process.

Keywords: *Eugenia brasiliensis* Lamarck. Grumixama. Bioactive compounds. Antioxidant capacity. Ripening.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.1 – <i>Eugenia involucrata</i>	30
Figura 1.2 – <i>Eugenia pyriformes</i> Cambess	30
Figura 1.3 – <i>Eugenia uniflora</i> L.....	31
Figura 1.4 – Árvore grumixameira.....	32
Figura 1.5 – Folhas de <i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck	33
Figura 1.6 – Flores de <i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck	33
Figura 1.7 – Variedades de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck)	34
Figura 1.8 – Estrutura química das antocianinas identificadas na <i>Eugenia brasiliensis</i>	35
Figura 1.9 – Ácidos fenólicos	41

CAPÍTULO 2

Figura 2.1 – Estádios de maturação da grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck)	55
Figura 2.2 – Eletroferograma dos padrões de ácidos orgânicos.....	61
Figura 2.3 – Eletroferograma do perfil dos ácidos orgânicos em diferentes estádios de maturação das amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck)	62

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 2.1 – Conteúdo de umidade, cinzas e proteína bruta em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos grumixama diferentes estádios de maturação nos frutos de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck)	58
Tabela 2.2 – Conteúdo de açúcares em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck), expressos em matéria integral.....	60
Tabela 2.3 – Conteúdo de minerais majoritários em diferentes estádios de maturação das amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck).....	64

CAPÍTULO 3

Tabela 3.1 – Conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante <i>in vitro</i> em amostras (epicarpo e mesocarpo) de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) em diferentes solventes.....	77
Tabela 3.2 – Concentração de fenólicos totais e potencial antioxidante em amostras (epicarpo e mesocarpo) de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) para diferentes solventes e mecanismos de extração	79
Tabela 3.3 – Conteúdo de antocianinas monoméricas totais em amostras (epicarpo e mesocarpo) de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) em diferentes solventes.	80

CAPÍTULO 4

Tabela 4.1 – Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e taninos condensados em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) em diferentes estádios de maturação.....	95
Tabela 4.2 – Capacidade antioxidante em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) em diferentes estádios de maturação.....	98
Tabela 4.3 – Parâmetros do espectrômetro de massas obtidos para os compostos fenólicos testados	100
Tabela 4.4 – Íon precursor, íon quantitativo e tempo de retenção dos compostos fenólicos e limite de detecção (LOD) identificados durante a maturação dos frutos grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck).....	102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina) 6-ácido sulfônico
AMT	Antocianinas monoméricas totais
CA	Capacidade antioxidante
CE	Eletroforese Capilar (do inglês, <i>Capillary Electrophoresis</i>)
CZE	Eletroforese Capilar de Zona (do inglês, <i>Capillary Zone Electrophoresis</i>)
DAD	Detector de arranjo de diodos (do inglês, <i>diode array detector</i>)
DPPH	2,2 difenil-1-picrilhidrazila
EAA	Equivalente a ácido ascórbico
EAG	Equivalente a ácido gálico
EC	Equivalente a catequina
ESI	Ionização por eletrospray (do inglês, <i>Electrospray Ionization</i>)
FRAP	Capacidade antioxidante de Redução do Ferro (do inglês, <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>)
FT	Fenólicos totais
GC	Cromatografia a Gás (do inglês, <i>Gas Chromatography</i>)
HCl	Ácido clorídrico
IC	Cromatografia de Íons (do inglês, <i>Ion Chromatography</i>)
LOD	Limite de detecção (do inglês, <i>limit of detector</i>)
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography</i>)
HPLC-MS	Cromatografia Líquida de Alta Performance acoplada à Espectrometria de Massas (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography/Mass Spectrometry</i>)
HPLC-MS/MS	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial (do inglês, <i>High Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry</i>)

ORAC	Capacidade de Absorção de Radicais de Oxigênio (do inglês, <i>Oxygen Radical Absorbance Capacity</i>)
TC	Taninos condensados
TPTZ	2,4,6-tripiril-s-triazina

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	24
CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	29
1.1 Família Myrtaceae e o gênero <i>Eugenia</i>	29
1.2 Grumixama (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck)	31
1.3 Importância das frutas nativas: um potencial a ser explorado	37
1.4 Maturação dos frutos	38
1.5 Compostos bioativos	39
1.6 Compostos fenólicos	39
1.6.1 Flavonoides	40
1.6.2 Ácidos fenólicos	41
1.6.3 Taninos	41
1.7 Compostos químicos de frutas	41
1.7.1 Açúcares	42
1.7.2 Minerais	42
1.7.3 Ácidos Orgânicos	43
1.8 Avaliação da capacidade antioxidante	44
1.9 Extração de compostos fenólicos	45
1.10 Sistemas analíticos	46
1.10.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas	47
1.10.2 Eletroforese capilar de zona	47
CAPÍTULO 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA MAJORITÁRIA E PERFIL DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DE FRUTOS GRUMIXAMA (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO	49
RESUMO	51
1 INTRODUÇÃO	53
2 MATERIAL E MÉTODOS	54
2.1 Reagentes	54
2.2 Amostragem	55
2.3 Avaliação da composição química majoritária	56
2.4 Análise estatística	57
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	57
3.1 Teor de umidade, cinzas e proteína bruta	57
3.2 Açúcares	59
3.3 Perfil de ácidos orgânicos	61
3.4 Minerais	63

4. CONCLUSÃO	66
CAPÍTULO 3 – SCREENING DE SOLVENTES E SISTEMAS DE EXTRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM FRUTOS DE GRUMIXAMA (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) ..	67
RESUMO	69
1 INTRODUÇÃO.....	71
2 MATERIAL E MÉTODOS	72
2.1 Reagentes	72
2.2 Amostragem.....	72
2.3 <i>Screening</i> para definição do solvente extrator mais efetivo quanto a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante	73
2.4 <i>Screening</i> para escolha do mecanismo de extração mais efetivo quanto à concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante	74
2.5 Conteúdo de fenólicos totais (FT).....	74
2.6 Capacidade antioxidante (CA) dos extratos	75
2.7 <i>Screening</i> de solvente extrator mais efetivo para quantificação de antocianinas monoméricas totais (AMT).....	75
2.8 Quantificação das antocianinas monoméricas totais	76
2.9 Análise estatística	76
3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	76
3.1 <i>Screening</i> para definição do solvente extrator	76
3.2 Resultados de <i>screening</i> do mecanismo de extração	78
3.3 Resultado do <i>screening</i> para solvente mais efetivo quanto a concentração de antocianinas monoméricas totais	80
4 CONCLUSÃO	81
CAPÍTULO 4 – COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE GRUMIXAMA (<i>Eugenia brasiliensis</i> Lamarck) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO.....	83
RESUMO	85
1 INTRODUÇÃO.....	87
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	88
2.1 Reagentes	88
2.2 Amostragem	89
2.3 Preparo dos extratos	89
2.4 Determinação de compostos fenólicos totais (FT)	90
2.5 Determinação de antocianinas monoméricas totais (AMT)	90

2.6	Quantificação de taninos condensados (TC).....	91
2.7	Capacidade antioxidante <i>in vitro</i>	91
2.7.1	Método de DPPH	91
2.7.2	Método FRAP	92
2.8	Perfil dos compostos fenólicos livres e conjugados.....	92
2.9	Análise estatística	94
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES	94
3.1	Compostos fenólicos	94
3.2	Capacidade antioxidante pelo método DPPH e FRAP	97
3.3	Perfil dos compostos fenólicos livres e conjugados.....	100
4	CONCLUSÃO	105
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	107
	REFERÊNCIAS	109

INTRODUÇÃO

O Brasil é o sétimo maior produtor de frutas tropicais e o terceiro maior produtor mundial de frutas. Além disso, sua extensa área geográfica, localização, condições climáticas e condições de solo contribuem para esse título. Apesar da abundância natural de espécies frutíferas nativas, diversas espécies que até então permanecem pouco explorada (DONADO-PESTAÑA; BELCHIOR; GENOVESE, 2015) principalmente do ponto de vista comercial, apresentam potencial para agricultura familiar e para as agroindústrias (DA SILVA et al., 2014).

A vasta gama de frutas nativas brasileiras apresenta características peculiares provenientes do sabor e aroma, do valor nutricional agregado e da disponibilidade das frutas, pois muitas delas ainda não possuem plantio comercial (VIEIRA et al., 2006). Poucas frutas nativas são exploradas comercialmente, sendo um dos fatores que limitam, a quantidade de estudos disponíveis sobre sua composição química e propriedades nutricionais (DONADO-PESTAÑA; BELCHIOR; GENOVESE, 2015), ressaltando a importância de estudos sobre estes frutos com potencial expressivo de fonte de compostos bioativos. Além disso, oportunizaria a produtores locais, o acesso a mercados especiais, com maior ênfase na presença de nutrientes capazes de prevenir doenças degenerativas (RUFINO et al., 2010, DA SILVA et al., 2014).

Nas últimas décadas, há um crescente interesse pelo estudo de frutos nativos devido ao seu potencial bioativo e nutricional (DA SILVA et al., 2014; DENARDIN et al., 2015; BERTO et al., 2015; BATAGLION et al., 2015; ALMEIDA et al., 2011; DE SOUZA et al., 2012). Neste contexto, a *Eugenia brasiliensis* Lamarck, popularmente conhecida por grumixama, pertencente ao gênero *Eugenia* na família das Myrtaceae, é uma planta nativa oriunda da mata pluvial Atlântica, encontrada desde o Sul da Bahia até Santa Catarina (FLORES et al., 2012; LORENZI et al., 2006; MAGINA; DALMARCO; DALMARCO, 2012; SARTORI, 2012). O cultivo comercial desta planta começou nos últimos anos, representando um potencial econômico devido aos atributos sensoriais peculiares e compostos fenólicos em sua composição (DA SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2015).

Os critérios de colheita dos frutos da grumixama, não foram relatados na literatura científica e hoje são baseados no conhecimento empírico de pequenos produtores (SARTORI, 2012). Portanto, não há parâmetros definidos indicando o estágio de maturidade ideal para a

colheita, principalmente correlacionados com a composição de nutrientes e compostos bioativos presentes.

Devido à escassez de estudos sobre a variação destes compostos em diferentes estádios de maturação e falta de informações sobre o estádio de maturação ideal para a colheita, o presente estudo teve como objetivo proporcionar dados sobre a caracterização química e bioativa da *Eugenia brasiliensis* Lamarck e avaliar a capacidade antioxidante em diferentes estádios de maturação destes frutos.

Neste sentido, este trabalho está estruturado nos seguintes capítulos: Capítulo 1: apresenta a revisão bibliográfica sobre a família Myrtaceae, principais frutos do gênero *Eugenia* com potencial econômico, estudos sobre os compostos bioativos e nutricionais das folhas e frutos da *Eugenia brasiliensis* Lamarck e metodologias empregadas na realização deste trabalho; Capítulo 2: apresenta a composição química majoritária, perfil de ácidos orgânicos e determinação de açúcares e minerais em diferentes estádios de maturação em dois locais de cultivo; Capítulo 3: o perfil de solventes e sistemas de extração para determinação dos fenólicos e capacidade antioxidante nos frutos grumixama; Capítulo 4: trata dos compostos fenólicos e capacidade antioxidante em diferentes estádios de maturação dos frutos grumixama em dois locais de cultivo.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Família Myrtaceae e o gênero *Eugenia*

A Myrtaceae é uma família de plantas composta de 130 gêneros e mais de 4.000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2012). Distribuída em todos os continentes, com exceção da Antártica (GRESSLER; PIZO; MORELLATO, 2006), é encontrada principalmente na Austrália, sudeste da Ásia, América do Sul e Central (REYNERTSON et al., 2008; LAGO et al., 2011; DIAS et al., 2012;). Os principais gêneros são *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseuocaryophyllus*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Leptospermum*, *Plinia* e *Malaleuca* (LAGO et al., 2011).

Na flora brasileira, a família Myrtaceae representa uma das maiores famílias mais importantes, com 22 gêneros e 1000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2012), composta por espécies de maior predominância na Mata Atlântica. Destas várias espécies são cultivadas, produzindo frutos comestíveis de sabor peculiar, contribuindo para o desenvolvimento econômico sustentável (STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011).

Um importante representante desta família é o gênero *Eugenia*, com cerca de 500 espécies (COLE; HABER; SETZER, 2007; MAZINE; SOUZA, 2008). O gênero *Eugenia* é encontrado a partir do México e Caribe até o norte da Argentina, com um pequeno número de espécies na África (MAZINE, SOUZA, 2008). Estima-se que 350 espécies são nativas do Brasil (MAGINA; DALMARCO; DALMARCO, 2012). A maior parte destas espécies ricas em flavonoides, mono e sesquiterpenos, triterpenoides, óleos essenciais e taninos presentes principalmente nas folhas, sendo frequentemente utilizadas pela medicina popular (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006).

O gênero *Eugenia* encontra-se nas mais diversas formações vegetais do Brasil, a espécie *Eugenia involucrata* conhecida popularmente como cereja-do-mato (Figura 1.1) é encontrada desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, no Paraguai, Uruguai e Argentina (SARMENTO; SILVA; SILVA, 2012), com floração nos meses de setembro a novembro e maturação de novembro a janeiro (LORENZI et al., 2006). Apesar da oferta dos frutos da cereja-do-mato ser restrita, o fruto apresenta potencial econômico, devido à qualidade dos seus frutos de sabor doce, podendo ser consumidos *in natura*, com excelente qualidade para processamento de doces, geleias, sucos, sorvetes e licores. Na forma processada, além de agregar valor ao produto, é uma alternativa para ofertar os produtos de forma adequada

em quantidade e qualidade (LISBOA; KINUPP; BARROS, 2011; FRANZON, 2008).

Figura 1.1 – *Eugenia involucrata*



Fonte: Coradin, Siminski, Reis (2011).

Outro fruto muito peculiar presente na região Sul do país, a *Eugenia pyriformes* Cambess (Figura 1.2), mais conhecida por uvaia, é encontrada desde São Paulo até o Rio Grande do Sul, com floração nos meses de agosto a dezembro e maturação de setembro a fevereiro (LORENZI et al., 2006). Os frutos de sabor adocicado e ácido (SCALON et al., 2012), apresentam potencialidade no uso industrial, como geleias, suco, doces e sorvetes (RAMIREZ et al., 2012).

Figura 1.2 – *Eugenia pyriformes* Cambess



Fonte: Coradin, Siminski, Reis (2011).

A pitanga, *Eugenia uniflora* L. (Figura 1.3), espécie mais conhecida do gênero *Eugenia*, é a fruto com maior volume de produção deste gênero, encontrada de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, florescendo de agosto a novembro e maturação de outubro a janeiro (LORENZI et al., 2006).

Figura 1.3 – *Eugenia uniflora* L.



Fonte: Coradin, Siminski, Reis (2011).

Muito popular no Nordeste, o cultivo de pitanga no estado de Pernambuco vem crescendo de forma expressiva, apresentando grande potencial comercial nos frutos processados para produção de suco, polpas congeladas, sorvetes, refrescos, geleias, licores e vinhos (BEZERRA et al., 2004; BOURSCHEID et al., 2011). Embora nos últimos anos o comércio dos frutos *in natura* e produtos processados tenha se intensificado, a pitanga também apresenta um grande potencial para a produção de óleos essenciais, matéria prima de cosméticos e corantes (BOURSCHEID et al., 2011).

Algumas espécies do gênero *Eugenia*, como *Eugenia uniflora* L., oferecem vantagens em relação a outras frutíferas cultivadas, por apresentarem uma maior eficiência no acúmulo de nutrientes nos frutos, principalmente nos cultivos de solos com baixa fertilidade (SILVA et al., 2003). Entre as espécies do gênero *Eugenia* destaca-se a grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck).

1.2 Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)

Pertencente à família Myrtaceae, botanicamente classificada *Eugenia brasiliensis* Lamarck, popularmente conhecida como “grumixama” ou cereja brasileira (FISHER; KATO; KONISHI, 2003; FLORES et al., 2012; MAGINA; DALMARCO; DALMARCO, 2012); podendo também ser chamada pelo regionalismo de grumixaba,

cumbixaba e ibaporoiti (PIETROVSKI et al., 2008; SARTORI, 2012). O nome mais conhecido é *Eugenia brasiliensis*, porém como sinonímia botânica apresenta os seguintes nomes, *Eugenia filipes* (Bail), *Myrtus dombeyi* (Spreng), *Stenocalix brasiliensis* (Lam.) O. Berg. e *Eugenia bracteolaris* Lam. (SARTORI, 2012).

A grumixameira é uma árvore frutífera cultivada nos pomares domésticos, sendo nativa da mata pluvial Atlântica, encontrada desde o Sul da Bahia até Santa Catarina (LORENZI et al., 2006; SARTORI, 2012). Apesar de nativa da Mata Atlântica, estudos indicam que a região norte do país, no estado do Pará, algumas plantas cultivadas neste local apresentaram bom desenvolvimento, tanto da árvore como da frutificação (SARTORI, 2012).

A árvore é perenifólia de copa densa de 8-15 m de altura (Figura 1.4) possui raízes pouco profundas e não possui raiz pivotante na sua estrutura. Nas altitudes de 400 a 1.000 metros, a grumixameira possui maior frequência arbórea, podendo enfrentar horas de frio abaixo de 7,2°C e até mesmo temperaturas positivas próximas de 0°C, podendo ser acompanhada de geadas fracas (SARTORI, 2012).

Figura 1.4 – Árvore grumixameira



Fonte: próprio autor.

As grumixameiras se caracterizam por copa densa, folhas verde-escuras, brilhantes quando maduras e folhas verde-claras quando novas, mostrando uma diferença de tonalidades que torna esta árvore com características peculiares (Figura 1.5). A lâmina foliar apresenta-se de forma inteira, com base e ápice agudos, com angulação voltada para o solo (SARTORI, 2012).

Figura 1.5 – Folhas de *Eugenia brasiliensis* Lamarck



Fonte: Sartori (2012).

A morfologia da grumixameira apresenta-se com aspecto piramidal ou coneidal, ocorrendo desde as folhas e ramos próximos ao solo. O tronco é curto, cilíndrico, com tonalidade marrom e descamante. Os ramos principais são retos, de coloração marrom-escuro, mantendo essa coloração e tonalidade nos ramos secundários, até próximo da inserção dos pecíolos. A casca do tronco e dos ramos é grossa, apresentando ranhuras longitudinais e a parte externa da casca, pode ser retirada através das polpas digitais, pois são facilmente desprendidas (SARTORI, 2012).

O florescimento da grumixameira ocorre somente quando a umidade do solo atinge um determinado nível e na mesma época, diferentemente de outras mirtáceas que florescem sem ter relação com o índice pluviométrico. Enquanto a floração de outras frutíferas do gênero *Eugenia* ocorre em 1, 2 ou até 3 vezes na mesma estação, as grumixameiras possuem apenas uma produção de flores (Figura 1.6). A floração ocorre no início da primavera, no final de setembro e em outubro (LORENZI et al., 2006; SARTORI, 2012), com amadurecimento dos frutos em novembro e dezembro (KOHAMA et al., 2006).

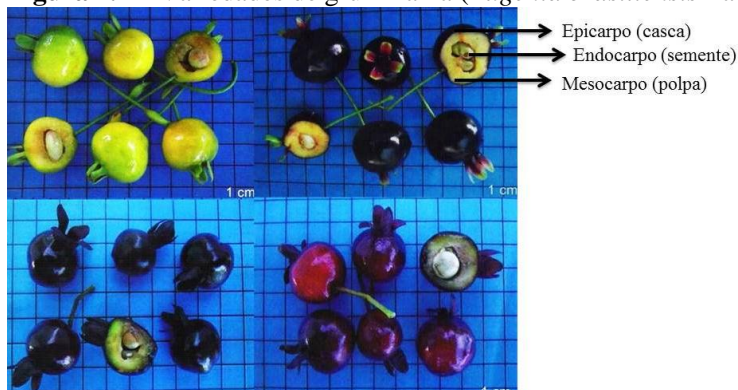
Figura 1.6 – Flores de *Eugenia brasiliensis* Lamarck



Fonte: próprio autor.

A grumixameira produz frutos do tipo baga, de superfície lisa e brilhante (GOMES, 1972), apresentando as colorações do epicarpo, que vão do amarelo ao roxo-escuro ou preto (Figura 1.7) sendo os frutos pretos ricos em antocianinas (FLORES et al., 2012; SUGUINO et al., 2011). O fruto apresenta mesocarpo espesso, suculento, firme e de sabor adocicado, contendo de 1 a 3 sementes que se separam facilmente da polpa (LORENZI et al., 2006). Os frutos apresentam uma forma globulosa, arredondados e achatados na parte transversal, sua coloração dependendo da variedade pode variar de preta com sépalas verdes, preta com sépalas pretas, vermelha com sépalas verdes e a amarela com sépalas verdes. (SARTORI, 2012).

Figura 1.7 – Variedades de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)

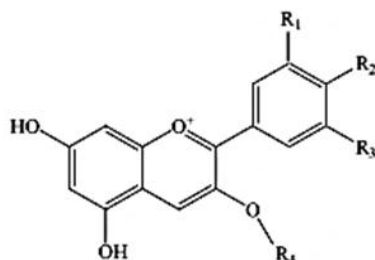


Fonte: adaptado de Sartori (2012).

A grumixama apresenta compostos bioativos principalmente em folhas (COLLA et al., 2012; FISHER; KATO; KONISHI, 2003; FLORES et al., 2012; FRIGHETTO et al., 2005; LIMA; D'AVILA; SIANI, 2014; MAGINA; DALMARCO; DALMARCO, 2012; PIETROVSKI et al., 2008) e poucos estudos tem sido realizado para o fruto (ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012; DA SILVA et al., 2014; FLORES et al., 2012; TEIXEIRA et al., 2015).

Flores et al. (2012), identificaram nove antocianinas em frutos de *Eugenia brasiliensis* (Figura 1.8), delfinidina-3-glucosídeo, cianidina-3-galactosídeo, cianidina-3-glucosídeo, cianidina-3-arabinosídeo, delfinidina-3-pentosídeo, cianidina-3-xilosídeo, malvidina-3-glucosídeo, delfinidina e cianidina), dentre elas, sete são relatadas pela primeira vez para este fruto.

Figura 1.8 – Estrutura química das antocianinas identificadas na *Eugenia brasiliensis*



Componente	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
delfinidina-3-glucosídeo	OH	OH	OH	glicosil
cianidina-3-galactosídeo	OH	OH	H	galactosil
cianidina-3-glucosídeo	OH	OH	H	glicosil
cianidina-3-arabnosídeo	OH	OH	OH	arabinosil
delfinidina-3-pentosídeo	OH	OH	OH	pentosil
cianidina-3-xilosídeo	OH	OH	H	xilosil
malvidina-3-glucosídeo	OCH ₃	OH	OCH ₃	glicosil
Delfinidina	OH	OH	OH	H
Cianidina	OH	OH	H	H

Fonte: Adaptado por Flores et al. (2012).

Estudo sobre frutos consumidos no Brasil como potenciais fontes de ácido elágico, realizado por Abe, Lajolo e Genovese (2012), mostrou que entre sete frutas pertencentes a família Myrtaceae, cambuci, camu-camu, goiaba vermelha, goiaba branca, grumixama, jabuticaba e pitanga, a grumixama apresentou o maior teor de antocianinas $1,69 \pm 0,05 \text{ g kg}^{-1}$ cianidina-3-glicosídeo. Jabuticaba, grumixama e cambuci, apresentaram os maiores teores de ácido elágico, $3,11 \pm 0,19 \text{ g}$, $2,70 \pm 0,08 \text{ g}$, $2,67 \pm 0,07 \text{ g}$, respectivamente. Os frutos camu-camu, jabuticaba e grumixama, apresentaram os maiores valores para a capacidade antioxidante, $141 \pm 7 \text{ mmol Trolox}$, $62,00 \pm 6 \text{ mmol Trolox}$, $64 \pm 4 \text{ mmol Trolox}$, respectivamente.

Segundo estudo realizado por Da Silva et al. (2014), em frutos de grumixama com tonalidade preta coletados em São Paulo, foram identificados 19 compostos de carotenoides, sendo os principais all-trans- β -criptoxantina ($286,7 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$) e all-trans-luteína ($55,5 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$). As antocianinas majoritárias identificadas foram cianidina-3-glicosídeo (94%) e delfinida-3-glicosídeo (3,5%) e apresentou $266,34 \text{ mg cianidina-3-glicosídeo } 100 \text{ g}^{-1}$ para antocianinas monoméricas totais e os compostos fenólicos majoritários identificados neste fruto foram os derivados do ácido sinápico.

Em estudo recente realizado por Teixeira et al. (2015) com duas variedades de grumixama, frutos amarelos coletados em São Paulo e frutos pretos de São Paulo e Santa Catarina em dois períodos de colheita distintos, os frutos pretos apresentaram valores de antocianinas e flavonoides ($32 - 180 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$) superiores aos apresentados pelos frutos amarelos ($13-41 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$). O mesmo comportamento foi observado para elagitânicos, frutos pretos ($82 - 243 \text{ mg}$ equivalente a ácido elágico 100 g^{-1}) e frutos amarelos ($92 - 100 \text{ mg}$ equivalente a ácido elágico 100 g^{-1}). Entre as amostras de frutos pretos, o teor de fenólicos variou de $340 - 500 \text{ mg } 100 \text{ g}^{-1}$ e antocianinas monoméricas totais de $30 - 200 \text{ mg cianidina 3 glicosídeo } 100 \text{ g}^{-1}$, sendo esses valores similares aos encontrados em amoras.

Moreno et al. (2007), avaliaram a composição dos óleos essenciais das folhas e dos frutos de duas variedades da *Eugenia brasiliensis* e relataram diferenças significativas no padrão de terpenos nas duas variedades de cores dos frutos, roxo e amarelo. Apesar dos componentes principais do óleo da folha apresentarem os mesmos para ambas as variedades (α -pineno, β -pineno e 1,8-cineol), o óleo do fruto roxo possui uma maior quantidade de sesquiterpenos oxigenados (33,9%). No óleo da fruta roxa foi encontrado majoritariamente sesquiterpenos (57,3% oxigenados e 34,1% de hidrocarbonetos), sendo o óleo do fruto amarelo, composto em sua maioria de monoterpenos (42,9% hidrocarbonetos e 18,5% oxigenado).

Pietvroski e colaboradores (2008) realizaram estudo sobre as propriedades anti-inflamatórias e a aplicação do extrato hidroalcoólico das folhas de *Eugenia brasiliensis*, por modelos clássicos na inflamação do edema de pele em orelha dos ratos, induzido por óleo crôton. Os resultados mostraram que essa aplicação ocasionou uma inibição no edema, mostrando que compostos e frações da *Eugenia brasiliensis* possuem capacidade anti-inflamatória, destacando esta espécie como promissora para o desenvolvimento de medicamento para tratamento de doenças de pele, bem como fonte de compostos bioativos.

1.3 Importância das frutas nativas: um potencial a ser explorado

O Brasil destaca-se pela ampla biodiversidade biológica e considerado um dos principais centros de genética de diversidade de espécies de frutas no mundo. Entretanto, a maior parte destas espécies permanece pouco explorada e seu potencial desconhecido (PEREIRA et al., 2012).

Apesar da maior variedade das espécies brasileiras de frutos nativos ser encontrados na Amazônia e no Cerrado, a região Sul também apresenta potencial em frutos nativos. Nesta região, a família Myrtaceae destaca-se por apresentar o maior número de espécies com potencial de frutos para ser comercializados *in natura*, processados como sucos, iogurtes, licores, barras de cereais, doces e compotas (PEREIRA et al., 2012).

Nos últimos anos, pesquisas científicas têm enfatizado o potencial nutricional e bioativo de diversas frutas, como diferencial para agregar a saúde e maior praticidade em produtos. As tendências internacionais indicam uma crescente demanda por produtos com alto valor nutritivo, a fim de promover o bem-estar e oferecer uma alimentação mais saudável a base de frutas (PORTES, 2009).

O consumo de frutas visando os aspectos funcionais e nutracêuticos, também é um fator que pode contribuir para a elevação do consumo, bem como o aumento de áreas plantadas de diversas frutas, incluindo frutas nativas das diferentes regiões do Brasil (FACHINELLO; NACHTIGAL; KERSTEN, 2008).

Neste contexto, o consumo de frutas não é mais considerado apenas um resultado de preferência pessoal, mas tornou-se uma questão de saúde da população, devido ao conteúdo de nutrientes e compostos com propriedades bioativas. A maior parte das frutas possuem quantidades significativas de minerais, fibras, vitaminas, carotenoides e compostos fenólicos. Vários estudos vêm sendo realizados visando demonstrar a importância desses componentes para a saúde humana (RUFINO et al., 2010).

Apesar de diversos estudos demonstrarem os efeitos benéficos das frutas nativas, muitas delas ainda não possuem plantio comercial e ainda não foram inseridas no agronegócio brasileiro, seja pelos aspectos socioculturais, forma de exploração extrativista, falta de tecnologia para a produção em escala ou até mesmo pela falta de conhecimento do seu potencial de aproveitamento (VIEIRA et al., 2006).

Os recursos nativos são considerados de grande importância, pois podem ser utilizados como fonte de renda alternativa para pequenos

agricultores e como forma de incentivo para permanência na zona rural. Desta forma, denota-se a importância de investir em políticas de valorização e reintrodução dos recursos vegetais nativos nos diversos sistemas produtivos (LEITE; CORADIN, 2011).

1.4 Maturação dos frutos

A maturação é o estágio do desenvolvimento do fruto que coincide com a maturação fisiológica. Os frutos apresentam três fases fisiológicas, sendo elas o crescimento, a maturação e a senescência. O amadurecimento corresponde à fase final da maturação, na qual os frutos são transformados em produtos atrativos e aptos para consumo, sendo um processo normal e irreversível, porém pode ser retardado com uso de processos adequados (BOUZAYEN et al., 2010; CHITARRA; CHITARRA, 2005; SINHA et al., 2012).

As principais transformações físicas, químicas e bioquímicas que ocorrem durante a maturação são atribuídas ao desenvolvimento das sementes, síntese proteica, modificação na permeabilidade das membranas celulares, elevação da atividade respiratória, síntese do etileno, alterações na pigmentação, modificação na textura sabor e aroma, polimerização e síntese de compostos fenólicos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Um dos aspectos característicos da maturação dos frutos vermelhos é a mudança da cor verde a vermelha inicial, violeta ou negra, causada pelo acúmulo de antocianinas, carotenoides e pela degradação da clorofila (MACHEIX; FLEURIET; BILLOT, 1990; TUCKER, 1993). A degradação da clorofila ocorre em função das mudanças no pH, liberação dos ácidos orgânicos, no aumento dos processos oxidativos e da ação das clorofilases (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Durante a maturação dos frutos, os compostos fenólicos sofrem uma série de processos de biossíntese levando a mudanças na sua composição (PRASANNA; PRABHA; THARANATHAN, 2007). Mudanças significativas durante a maturação foram relatadas por vários autores, nos ácidos orgânicos, açúcares, composição fenólica e antocianinas bem como elementos minerais (Al-MAIMAN; AHMED, 2002; MIRDEHGHAN; RAHEMI, 2007; STURM; KORON; STAMPAR, 2003).

As respostas sensoriais de aroma nas frutas são principalmente dependentes das transformações bioquímicas durante o amadurecimento

e tem grande aceitação dos produtos hortícolas, principalmente as frutas (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

1.5 Compostos bioativos

Um dos principais fatores que conduzem ao interesse crescente pelo consumo diário de frutas e produtos de frutas é a riqueza de nutrientes, uma vez que estudos epidemiológicos indicam que a ingestão frequente de frutas pode reduzir os efeitos causados pelo estresse oxidativo, por conterem compostos bioativos, como antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos e vitaminas (GORINSTEIN et al., 2011). Por possuírem diferentes compostos bioativos, possuem ação antioxidante, com indicação de promoverem benefícios adicionais à saúde e proteção ao corpo humano contra diferentes doenças crônicas, como obesidade, diabetes mellitus, dislipidemias, hepatopatias e cânceres (CARDOSO et al., 2011; CROWE et al., 2011; DE SOUZA et al., 2012; DEMBITSKY et al., 2011; DEVALARAJA; JAIN; YADAV, 2011; PEREIRA et al., 2012; ROCHA et al., 2011; RUFINO et al., 2010; WOOTTON-BEARD; RYAN, 2011).

As frutas e legumes representam as principais fontes de vitaminas, compostos fenólicos e carotenoides, os quais atuam como sequestrantes de radicais livres, tornando estes alimentos essenciais para a saúde humana (DAI; MUMPER, 2010; GAWLIK-DZIKI; SWIECA; SUGIER, 2012; MALTA et al., 2012; NIKI, 2010; VETRANI et al., 2012;). Devido ao alto valor nutritivo e aos efeitos terapêuticos das frutas, a produção e a ingestão destas aliadas ao marketing tem registrado um aumento significativo no mercado nacional e internacional (HO; BHAT, 2015).

1.6 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários de plantas que apresentam em sua estrutura química um anel aromático tendo um ou mais grupos hidroxila, podendo assim variar de uma simples molécula fenólica a um polímero complexo de alto peso molecular. Estes compostos se enquadram em diversas categorias, conforme o número de anéis aromáticos e os elementos estruturais que se ligam a esses anéis (IGNAT; VOLF; POPA, 2011).

Os compostos fenólicos podem ser divididos em dois grupos flavonoides e não flavonoides. O primeiro grupo, correspondente aos flavonoides, compostos que possuem a estrutura $C_6C_3C_6$, como as

flavanonas, flavonas, dihidroflavonois, flavonois, flavan-3-óis, antocianidinas, isoflavonas e proantocianidinas. O grupo dos não flavonoides é classificada de acordo com o número de carbonos e compreende os seguintes subgrupos: fenólicos simples, ácidos benzoicos, taninos hidrolisáveis, acetofenomas, ácido fenilacético, ácido cinâmico, cumarinas, benzofenomas, xantonas, estilbenos, calconas, lignanas e secoiridoides (ROSA; ÁLVAREZ-PARRILLA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2010).

Nas frutas, vegetais e seus produtos, os compostos fenólicos são conhecidos como os principais responsáveis pela capacidade antioxidante destas matérias-primas e seus produtos, por possuírem elevado potencial de oxidação e redução de sua estrutura química (IGNAT; VOLF; POPA, 2011). No entanto, seus teores podem variar conforme a região de plantio, tipo de solo, exposição solar, índice pluviométrico, estágio de maturação e variedade da cultivar (MARTINS et al., 2011).

1.6.1 Flavonoides

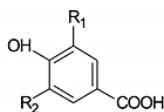
Os flavonoides são representantes da classe de compostos fenólicos, diferindo entre si pela sua estrutura química (BEHLING et al., 2004). Esses compostos estão amplamente presentes nas plantas, sendo que a maior parte dos tecidos das plantas podem sintetizá-los. Além disso, existe uma ampla variedade de tipos de flavonoides, cerca de 2.000 de ocorrência natural (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os flavonoides em plantas ocorrem geralmente glicosiladas principalmente com glicose ou ramnose, porém eles também podem ser ligados com galactose, arabinose, xilose, ácido glucurônico ou outros açúcares (ROSA; ALVAREZ-PARRILLA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2010).

A classificação dos flavonoides pode ser dividida em sete grupos, flavonas, flavononas, flavonolois, isoflavonas, flavanois e antocianinas. Um importante representante dos flavonoides, as antocianinas, são um dos grupos de pigmentos de maior distribuição no reino vegetal (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Estes pigmentos naturais pertencem ao grupo de metabólitos secundários vegetais (CARDOSO et al., 2011), onde são sintetizados e acumulados ou excretados a partir de células vivas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). As antocianinas atuam como antioxidantes, na proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função biológica (LOPES et al., 2007).

1.6.2 Ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos (Figura 1.9), são subdivididos em derivados do ácido benzoico e ácido cinâmico. Os ácidos hidrocinâmicos são mais comuns em relação aos hidrobenzoicos, sendo o p-cumárico, cafeico e sinápico os mais frequentes. Esses ácidos são raramente encontrados na forma livre, exceto nos alimentos processados (congelados, esterilizados ou fermentados). O principal representante dos ácidos hidrocinâmicos é o ácido cafeico, principalmente na forma de éster com o ácido quínico, denominado de ácido clorogênico, sendo encontrado em diversas frutas (ARAÚJO, 2011).

Figura 1.9 – Ácidos fenólicos

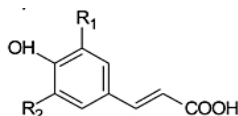


Ácido p-hidroxibenzoico: $R_1 = R_2 = H$

Ácido protocatecuico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido vanílico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Ácido sirínico: $R_1 = R_2 = OCH_3$



Ácido p-cumárico: $R_1 = R_2 = H$

Ácido cafeico: $R_1 = OH, R_2 = H$

Ácido ferúlico: $R_1 = OCH_3, R_2 = H$

Fonte: Chitarra, Chitarra, 2005.

1.6.3 Taninos

Os taninos são formados a partir dos ácidos carboxílicos, fenólicos e dos açúcares e são classificados em dois grupos, hidrolisáveis e condensados (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os taninos hidrolisáveis consistem de ésteres de ácidos gálicos e ácidos elágicos glicosilados, formados a partir do chiquímico, onde os grupos hidroxila do açúcar são esterificados com os ácidos fenólicos. Os taninos condensados, também chamados de proantocianidinas, são polímeros de flavan-3-ol e/ou flavan-3,4-diol, produtos do metabolismo do fenilpropanol (MONTEIRO et al., 2005).

1.7 Compostos químicos de frutas

1.7.1 Açúcares

Diversos autores afirmam que os principais açúcares responsáveis pelo sabor doce das frutas são frutose, glicose e sacarose (CHITARRA; CHITARRA, 2005; DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; KADER, 2008). Outros açúcares, como xilose, manose, arabinose, galactose, maltose, sorbose, octulose e celobiose, também podem estar presentes e em alguns casos, esses açúcares podem constituir a porção minoritária dos açúcares totais (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As quantidades de açúcares e ácidos presentes nas frutas estão relacionados aos sólidos solúveis totais e acidez titulável, sendo um indicativo do sabor da fruta. Ao longo da maturação nota-se, na maioria das frutas, aumento na doçura e redução da acidez, o que torna o teor de sólidos solúveis uma forma indireta de medir a doçura de uma fruta (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Os sólidos solúveis são compostos hidrossolúveis presentes nas frutas, como açúcares, vitaminas, ácidos, aminoácidos e pectinas. Este teor é dependente do estágio de maturação no qual a fruta é colhido e geralmente aumenta com o amadurecimento das frutas pelos processos biossintéticos ou pela degradação dos polissacarídeos (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A identificação e quantificação de diferentes carboidratos é considerada um desafio significativo, uma vez que são analitos de difícil separação que apresentam características físico-químicas semelhantes (MEINHART, 2010). Várias técnicas analíticas têm sido estudadas para esta finalidade, entre elas cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e eletroforese capilar (CE).

CE é uma técnica crescente para este tipo de análise, uma vez que o capilar de sílica fundida resiste a pH altamente alcalino, acima de 11,5 permitindo a ionização de carboidratos, o que facilita a separação (LEE; LIN, 1996; SOGA, SERWE, 2000). Além disso, a técnica tem sido amplamente utilizada devido ao baixo consumo de reagentes e baixa produção de resíduos (HERRERO et al., 2010). A técnica HPLC é também muito utilizada para a determinação de carboidratos, apresentando elevada sensibilidade e confiabilidade (MUÑOZ-ROBREDO et al., 2011; VARANDAS et al., 2004).

1.7.2 Minerais

Os minerais são essenciais para muitas reações enzimáticas do organismo, desempenhando funções vitais como manter o equilíbrio de fluidos, controlar a contração muscular, carregar oxigênio para a musculatura e regular o metabolismo energético. Como o corpo não é capaz de produzir minerais, eles devem ser ingeridos através de uma alimentação que forneça quantidades adequadas destas substâncias (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

As frutas e vegetais são importantes fontes de elementos minerais essenciais, os quais desempenham função vital no desenvolvimento da saúde do corpo humano, sendo as frutas consideradas fontes de minerais necessários na dieta humana (GONDIM et al., 2005). A composição da fração mineral das plantas não é constante, podendo variar de acordo com o tipo de planta, idade, condições de desenvolvimento e principalmente da disponibilidade dos elementos minerais no solo. A concentração dos minerais pode variar nos tecidos das plantas, pois a capacidade de absorção e acúmulo de um ou mais elementos minerais podem apresentar diferenças entre as plantas (CASTRO; KLUGE; PERES, 2005).

1.7.3 Ácidos Orgânicos

Os ácidos orgânicos são substâncias que contêm um ou mais grupos carboxilas em sua molécula e estão presentes em vários alimentos, principalmente em frutas, influenciando o sabor, odor, cor, estabilidade e a manutenção de qualidade (CHITARA; CHITARRA, 2005; ALMEIDA SILVA et al., 2012). Os ácidos predominantes, encontrados em frutas e hortaliças são málico, cítrico, tartárico, acético, oxálico, chiquímico, entre outros (KOBELITZ, 2008).

Nos vacúolos das células, os ácidos orgânicos são encontrados de forma livre ou combinados com sais, ésteres e glicosídeos. Na maioria das frutas, o teor de ácidos orgânicos tende a diminuir durante o processo de maturação, por utilização desses ácidos no ciclo de Krebs, durante o processo respiratório e nas reações de síntese de novos compostos. Estas reações também são fundamentais para a síntese de compostos fenólicos, lipídios e compostos voláteis. Assim, a variação na acidez pode ser um indicativo do estágio de maturação e no desenvolvimento do sabor característico das frutas (CHITARA; CHITARRA, 2005; SINHA et al., 2012).

Vários métodos e diferentes técnicas analíticas como espectrofotometria molecular, eletroforese capilar e cromatografia líquida e gasosa tem sido descritos na literatura especializada para determinação dos ácidos orgânicos (SCHERER; RYBKA; GODOY; 2008; SCHERER et al., 2012; SPÍNOLA et al., 2012).

Devido a importância dos ácidos orgânicos em frutas quanto à saúde humana, é fundamental buscar técnicas analíticas que sejam eficazes para identificar os ácidos orgânicos. Neste aspecto, pode-se destacar a Eletroforese Capilar de Zona (CZE), a qual tornou-se uma importante técnica analítica empregada para a determinação de diversos compostos em uma ampla variedade de matrizes, incluindo os alimentos (COLOMBARA; TAVARES; GALLI et al., 2003; KLAMPFL; BUCHBERGER; HADDAD, et al. 2000; MASSARO et al., 1997; MATO et al., 2006; MATO; RIVASSEAU et al., 2006; SUÁREZ-LUQUE; HUIDOBRO, 2007).

1.8 Avaliação da capacidade antioxidante

Os métodos químicos para determinação da capacidade antioxidante estão divididos quanto à natureza da reação envolvida em dois grupos principais, os que envolvem transferência de elétrons e os que envolvem transferência de átomos de hidrogênio (ALVES et al., 2010).

Os métodos amplamente empregados em frutas são: capacidade de sequestro de radicais livres, como o ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina) 6-ácido sulfônico) e o DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), capacidade do poder de redução do ferro (*Ferric Reducing Antioxidant Power* - FRAP) e capacidade de absorção de radicais de oxigênio (*Oxygen Radical Absorbance Capacity* - ORAC) (PÉREZ-JIMÉNEZ et al., 2008; RUFINO et al., 2010).

Os métodos ABTS, DPPH, FRAP e ORAC são os métodos mais empregados para a determinação da capacidade antioxidante *in vitro* (RUFINO et al., 2010). No entanto, observa-se que para a avaliação da capacidade antioxidante em frutos da família Myrtaceae, como pitanga (CELLI; PEREIRA-NETTO; BETA, 2011); araçá-boi (NERI-NUMA et al., 2013); camu-camu, jabuticaba, jambolão, uvaia (RUFINO et al., 2010) entre outros, tem sido utilizados principalmente os métodos DPPH e FRAP, por ser métodos simples e complementares.

O método DPPH envolve os mecanismos de transferência de elétrons e de átomos de hidrogênio, e fundamenta-se na capacidade dos antioxidantes em reduzir o radical DPPH com mudança simultânea na

coloração (de violeta para amarelo). Este método é considerado um dos mais simples, precisos e reprodutivos, muito utilizado para frutas, extratos de plantas e substâncias puras (SHARMA; BHAT, 2009; NIKI, 2010; SHAHIDI; ZHONG, 2015).

O método FRAP estima diretamente os antioxidantes e redutores presentes em uma amostra, baseado na habilidade da amostra em reduzir o Fe^{+3} (oxidado) em Fe^{+2} (reduzido), ou seja, na presença de 2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) (SHAHIDI; ZHONG, 2015), a redução é acompanhada pela formação de um complexo de coloração azul intensa com absorção máxima a 593 nm (BOROSKI et al., 2015). O método é realizado sob condições de pH ácido a fim de manter a solubilidade do ferro e transferência dos elétrons. É definido como método simples, rápido, baixo custo e não requer equipamento especializado (SHAHIDI; ZHONG, 2015).

1.9 Extração de compostos fenólicos

Diversas metodologias e sistemas de solventes vêm sendo empregados para a extração de compostos fenólicos em amostras vegetais. A solubilidade destes compostos é diretamente afetada pela polaridade dos solventes utilizados, gerando dificuldades no desenvolvimento de procedimento de extração apropriado para todos os fenólicos (NACZK; SHAHIDI, 2006; MIGLIATO et al., 2011).

Existem vários sistemas de extração e diferentes solventes para serem utilizados, porém não existe sistema com solvente que seja satisfatório para o isolamento de todos ou classe específica de antioxidantes naturais. Os solventes mais utilizados para a extração destes compostos são metanol, etanol, acetona, água, acetato de etila, propanol, hexano, dimetilformaldeído e suas combinações (SOUZA-SARTORI et al., 2013). Em relação aos solventes orgânicos, o metanol, por apresentar uma extração elevada da quantidade de compostos bioativos, tem sido o mais indicado para plantas por ser mais efetivo (OLIVEIRA; VALENTIM; GOULART, 2009).

Os procedimentos que antecedem a extração também estão envolvidos no processo e são de extrema importância, pois a coleta e preparação de amostras estão diretamente relacionadas à preservação do conteúdo fenólico. Para evitar a degradação destes compostos, as amostras (plantas, alimentos, fluídos biológicos) são frequentemente secas, liofilizadas ou congeladas antes do processo de extração e o método de armazenamento e temperatura de extração, devendo ser monitorados a fim de evitar a redução da estabilidade destes compostos

decorrente de degradação química, térmica e enzimática (STALIKAS, 2007).

Muitos fatores, tais como tipos de solvente, tempo de extração, temperatura, pH, proporção sólido-líquido e tamanho das partículas afetam a disponibilidade de compostos fenólicos. Tempos prolongados de extração aumentam a chance de oxidação dos fenólicos, a menos que agentes redutores sejam adicionados ao sistema solvente. Além disso, a razão amostra/solvente também influencia diretamente a recuperação de compostos fenólicos de plantas (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Para as antocianinas, por serem pigmentos solúveis em solventes polares, devem ser extraídos utilizando-se soluções alcoólicas de metanol ou etanol contendo ácido acético ou ácido clorídrico. O ácido empregado na solução possui a função de diminuir o pH, prevenindo a degradação de antocianinas não aciladas (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008), auxiliando no contato do solvente nos tecidos das frutas e vegetais. Além disso, aumenta a estabilidade dos extratos por dificultar o aparecimento de fungos que degradam as antocianinas (FAVARO, 2008).

1.10 Sistemas analíticos

Devido à facilidade em efetuar a separação, identificação e quantificação de espécies químicas, a cromatografia ocupa lugar de destaque dentre os métodos analíticos modernos. Tem sido uma ferramenta de grande importância, devido a capacidade de realizar separações de misturas complexas em componentes individuais em comparação com outros métodos de análises convencionais, apresentando vantagens em termos de tempo de análise, maior resolução e maior sensibilidade (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006; LAI; FRANKE, 2013).

A cromatografia é um método físico-químico de separação fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis: fase móvel (gás, líquido ou um fluido supercrítico) e fase estacionária (fixa colocada em uma coluna ou numa superfície sólida) (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

1.10.1 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada a Espectrometria de Massas (HPLC-MS), é uma técnica excelente para determinar traços de compostos polares. A cromatografia líquida pode ser equipada com vários analisadores de massas, sendo que cada um deles fornece características únicas, capazes de identificar e quantificar compostos, selecionando parâmetros apropriados de ionização e aquisição (LACORTE; FERNANDEZ-ALBA, 2006).

A combinação da cromatografia líquida a espectrometria de massa, proporciona uma alta seletividade, uma vez que os picos não resolvidos podem ser isolados, monitorando-se apenas um valor de massa selecionado (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2006). Além disso, o acoplamento da cromatografia líquida com espectrometria de massas possui boa sensibilidade, avalia a pureza do pico, confirma a presença do analito mediante a informação de massa molar e estrutural, sendo a característica mais importante deste sistema (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

Para algumas misturas complexas, a combinação da HPLC-MS não fornece uma resolução suficiente. Desta forma, nos últimos anos, tornou-se necessário o acoplamento de dois ou mais analisadores de massas em sequência, uma técnica conhecida como cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas sequencial (HPLC-MS/MS) (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2006). Esse método consegue atingir limites de detecção da ordem de ng L^{-1} a pg L^{-1} , oferecendo a confirmação dos compostos analisados, combinada à robustez do método (DA SILVA; COLLINS, 2011). Além disso, oferece versatilidade, especificidade e seletividade (GROS; PETROVIC; BARCELÓ, 2006).

1.10.2 Eletroforese capilar de zona

As técnicas comumente empregadas para análise de separação são os métodos cromatográficos, que incluem a cromatografia a gás (GC), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e a cromatografia de íons (IC). Essas são excelentes técnicas de análise, contudo a derivatização exigida na cromatografia gasosa, ou o alto consumo de solventes e o tempo de análise encontrados em HPLC ou IC tornam as técnicas com maior custo em relação ao uso da eletroforese capilar de zona (CZE). Esta por sua vez, consiste em uma técnica de separação de

solutos iônicos, que oferece características promissoras, incluindo análises rápidas, número elevado de pratos teóricos e seletividade de separação, apresentando características diferenciadas aos encontrados em métodos cromatográficos (ROVIO et al., 2010; HERRERO et al., 2010).

Na eletroforese capilar, uma diferença de potencial elétrico separa os componentes de uma solução dentro do capilar de sílica fundida, com comprimento e um diâmetro interno definidos. Íons diferentes possuem mobilidades diferentes, logo migram através do capilar com diferentes velocidades. A separação está baseada na diferença das razões massa/carga dos solutos iônicos tais como cátions e ânions inorgânicos e orgânicos (GERVASIO et al., 2003; HARRIS, 2012).

Dentre as técnicas de separação aplicadas na análise de alimentos, a eletroforese capilar foi estabelecida como uma ferramenta versátil, proporcionando separações rápidas, eficientes e automatizadas, apresentando baixo consumo de solventes e reagentes (HERRERO et al., 2010), alta resolução e utiliza pequenos volumes de amostra na faixa de μL (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). A rapidez do avanço da eletroforese capilar se deve em partes a simplicidade instrumental, mas principalmente a variedade dos modos de separação que podem ser realizados em uma única coluna capilar e a diversidade dos compostos passíveis de análise em cada modo (TAVARES, 1997).

**CAPÍTULO 2 – COMPOSIÇÃO QUÍMICA MAJORITÁRIA E
PERFIL DE ÁCIDOS ORGÂNICOS DE FRUTOS GRUMIXAMA
(*Eugenia brasiliensis* Lamarck) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE
MATURAÇÃO**

RESUMO

Os frutos de grumixama, planta nativa brasileira, pertencente à família Myrtaceae do gênero *Eugenia*, tem sido relatado na literatura por seu potencial bioativo e nutricional relevante. No entanto estudos sobre as características químicas e nutricionais bem como a falta de parâmetros que definam o melhor estágio de maturação dos frutos, ainda não foram relatados. Seguindo esta necessidade, este estudo buscou avaliar o teor de umidade, resíduo mineral fixo, proteína bruta, concentração de minerais majoritários, glicose, frutose, sacarose e perfil dos ácidos orgânicos em frutos de diferentes estádios de maturação cultivados em diferentes regiões do estado de Santa Catarina. Dos parâmetros analisados, os teores de umidade e resíduo mineral fixo não apresentaram variações significativas no decorrer da maturação. Os teores de proteína e minerais apresentaram comportamentos distintos no decorrer da maturação nas duas regiões de cultivo. A concentração dos açúcares, glicose e frutose, aumentaram no decorrer da maturação dos frutos nas duas regiões. A sacarose não foi detectada em nenhum dos estádios e amostras avaliadas. O perfil de ácidos orgânicos apresentou comportamento distinto na maturação, sendo os ácidos majoritários no estágio final, cítrico e o málico. Os resultados apresentados mostraram que os compostos analisados e suas concentrações podem influenciar as características e composição dos frutos, assim como a região do cultivo.

Palavras-chave: *Eugenia brasiliensis* Lamarck. Açúcares. Ácidos orgânicos. Parâmetros químicos. Maturação.

1 INTRODUÇÃO

O interesse na identificação e quantificação dos componentes químicos presentes em frutas nos seus diferentes estádios de maturação, devido ao impacto na qualidade do produto final, tem despertado o interesse da comunidade científica (GLEW et al., 2003).

Açúcares, água, minerais, vitaminas e outros componentes (HUI et al., 2006), são reservas de compostos presentes nas frutas. A relação entre estes nutrientes e os efeitos benéficos a saúde tem sido comprovadas por vários estudos científicos, sendo associados a dietas ricas em frutas e hortaliças (HERVERT-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Nas frutas, os minerais são importantes contribuintes na dieta humana, podendo seu conteúdo variar de acordo com a espécie da planta, maturidade, condições de solo, clima e práticas agrícolas (KONCZAK, ROULLE, 2011). Dos minerais encontrados em frutas e hortaliças, aparecem em maior concentração cálcio, magnésio, sódio e potássio. Em pequenas quantidades são encontrados ferro, cobre, manganês, zinco, iodo e molibdênio (KOBELITZ, 2011).

Os ácidos orgânicos, compostos de reserva em frutas e hortaliças, estão presentes em grandes quantidades e são importantes para o metabolismo respiratório (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; KOBELITZ, 2011), provendo energia para a manutenção da integridade das células vegetais. O teor destes ácidos geralmente decresce durante o amadurecimento dos frutos, devido sua utilização durante a respiração e conversão em açúcares, sendo também metabolizados em aminoácidos (KOBELITZ, 2011). Quando associados a minerais podem interferir na percepção da acidez e sua associação com açúcares solúveis altera o pH das frutas, contribuindo de forma indireta no metabolismo dos compostos fenólicos (KADER, 2008).

Os açúcares representam um dos principais componentes presentes nas frutas. A quantificação de glicose, frutose e sacarose, tem importância na avaliação do grau de doçura do produto, pois o poder adoçante desses açúcares apresenta variações com aumento sequencial da glicose, sacarose e frutose, no decorrer da maturação das frutas. Representando uma das principais alterações nas características das frutas, o acúmulo de açúcares ocorre de forma simultânea com a redução da acidez, atingindo geralmente a maior concentração no final da maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A avaliação do estágio de maturação das frutas é essencial para que as frutas colhidas no grau de maturação adequado atinja melhor qualidade assim como maior rendimento de matéria-prima

(CHITARRA; CHITARRA, 2005). O efeito dos estádios no decorrer da maturação, pode ser explicado devido a vários processos bioquímicos, fisiológicos e variações estruturais durante o amadurecimento (TLILI et al., 2014).

Os frutos nativos ainda são pouco explorados em algumas regiões do Brasil, devido à escassez de estudos relacionados a sua composição química, nutricional e bioativa. Nesse contexto, os frutos da grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck), pertencente ao gênero *Eugenia* família Myrtaceae, nativo do Brasil, destaca-se por seu potencial de inserção no mercado, devido as suas características nutricionais e bioativas (DA SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2015).

Estudos sobre a composição química e nutricional dos frutos de grumixama são escassos (DA SILVA et al., 2014; TEIXEIRA et al., 2015) e não há parâmetros padronizados indicando o estágio de maturação ideal para colheita dos frutos. Os critérios para colheita são baseados em parâmetros empíricos determinados pelos produtores (SARTORI, 2012). É importante ressaltar que frutos maduros, não necessariamente apresentam o maior conteúdo de compostos nutricionais, ressaltando a importância de estudos sobre o comportamento destes compostos no decorrer da maturação (SINHA et al., 2012).

Por considerar os frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) potencialmente exploráveis comercialmente, o presente estudo avaliou a concentração de minerais majoritários, teor de umidade, resíduo mineral fixo, proteína bruta, glicose, frutose, sacarose e realizou perfil de ácidos orgânicos em frutos cultivados em diferentes regiões do Estado de Santa Catarina em estádios de maturação distintos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico, a água desionizada obtida através de desionizador (MilliQ Millipore, Bedford, E.U.A.). Os compostos: brometo de cetil trimetil amônio (CTAB), β -alanina, os ácidos: maleico, malônico, tartárico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, sórbico, succínico, 3,5-dinitrobenzoico, cloretos de potássio, sódio, cálcio, magnésio, manganês, bário, e imidazol, obtidos da Sigma Aldrich (St Louis, USA). Os ácidos acético e láctico, hidróxido de sódio, glicose, frutose, sacarose obtidos da Merck (Rio de Janeiro, Brasil). Os

ácidos clorídrico, nítrico, bórico e sulfato de sódio anidro obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Ácido sulfúrico obtido da Qhemis (São Paulo, Brasil) e o sulfato de cobre obtido da Casa da Química (São Paulo, Brasil).

2.2 Amostragem

As amostras dos frutos de grumixama foram coletadas nos municípios de Florianópolis (latitude 27° 35' 48", longitude 48° 32' 57") – região A e São Ludgero (latitude 28° 19' 33", longitude 49° 10' 36") – região B, Santa Catarina, Brasil, durante os meses de novembro e dezembro de 2014, em árvores sadias, apresentando frutos em diferentes estádios de maturação. Massas de 100 g de frutos sadios foram coletados para cada estágio, totalizando 3 estádios de maturação (inicial, intermediário e totalmente maduro) em um mesmo momento de coleta. Os estádios de maturação podem ser observados na Figura 2.1. Os frutos coletados foram transportados ao Laboratório de Química de Alimentos da UFSC em caixas isotérmicas refrigeradas. No laboratório foram higienizados com água potável, seguidos de lavagem com água desionizada, drenados e dispostos em embalagens de polietileno, tendo atmosfera modificada com nitrogênio gasoso, seladas hermeticamente e mantidas à $-18 \pm 2^\circ\text{C}$ em freezer (Consul, modelo CV1U66BNA, SC, Brasil) até o momento das análises. No momento das análises as amostras ainda congeladas foram despulpadas (epicarpo e mesocarpo) manualmente e trituradas em moinho de bancada (IKA modelo A49, São Paulo, Brasil), para posteriormente serem analisadas imediatamente de acordo com os métodos propostos a seguir.

Figura 2.1– Estádios de maturação da grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)



Fonte: próprio autor.

2.3 Avaliação da composição química majoritária

Os parâmetros de umidade e substâncias voláteis foram avaliados de acordo com o método recomendado pela AOAC 2005 (925.09), onde massas de 5g das polpas previamente preparadas foram submetidas à secagem direta (Estufa SP Labor SP-400/1, São Paulo, Brasil) a temperatura de $105 \pm 2^\circ\text{C}$, até obtenção de massa constante e os resultados expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$.

A concentração de proteína bruta das polpas foi determinada segundo metodologia descrita por AOAC (2005) (920.87) e os resultados expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ em base seca, aplicando o fator de conversão de nitrogênio total para proteína bruta de 6,25.

Para a quantificação das concentrações de minerais totais (cinzas), massas de 5g de polpa foram calcinadas em forno mufla (Quimis, modelo EQ 318D24, São Paulo, Brasil) a $550 \pm 10^\circ\text{C}$, segundo metodologia recomendada pela AOAC (2005) (923.03). Os resultados foram expressos em $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ em base seca.

Para determinação de cátions majoritários, o resíduo mineral fixo obtido na determinação de cinzas totais, foi posteriormente dissolvido sob aquecimento com $100 \mu\text{L HCl}$ (12 M), transferidos para balão volumétrico de 5mL e avolumado com água desionizada. Alíquotas destas soluções foram diluídas na proporção de 9:1 (v/v) com padrão interno Ba^{2+} e injetados no sistema de eletroforese capilar (Agilent Technologies, modelo 7100, Palo Alto, E.U.A.) equipado com detector de arranjo de diodos (DAD), controlador de temperatura e programa de aquisição e tratamento de dados fornecido pelo fabricante (HP ChemStation). Para quantificação dos minerais, foi aplicado o método descrito por Rizelio et al. (2012a), através de método indireto, mantendo as mesmas condições analíticas. Uma curva de calibração foi utilizada para quantificar potássio (3–15 mM), sódio e cálcio (0,05 – 1,5 mM), magnésio (0,05 – 0,75 mM) e manganês (0,01 – 0,1 mM). Os resultados foram expressos em mg por 100g de amostra *in natura*.

Para quantificação de frutose, glicose e sacarose e perfil dos ácidos orgânicos, massas de 2g de amostra foram transferidas para um balão volumétrico de 50 mL e avolumados com água desionizada. A solução resultante foi homogeneizada por 1 min em processador doméstico (Britânia, modelo Black Plus, Paraná, Brasil), transferida para tubo de polipropileno e centrifugado (Fanem, modelo 280R, São Paulo, Brasil) a 3000 g por 5 minutos. O sobrenadante foi então reservado e injetado automaticamente em sistema de eletroforese capilar (Agilent Technologies, modelo 7100, Palo Alto, E.U.A.) equipado com

detector de arranjo de diodos (DAD), aplicando método descrito por Rizelio et al. (2012b). Uma curva de calibração ($180 - 360 \text{ mg L}^{-1}$) foi utilizada para quantificar frutose e glicose, e para sacarose ($342 - 5130 \text{ mg L}^{-1}$). Os resultados foram expressos em g por 100 g^{-1} . O perfil dos ácidos orgânicos foi determinado segundo a metodologia sugerida por Azevedo et al. (2014), por método indireto, mantendo as mesmas condições analíticas.

2.4 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata de preparo de amostras e análise e para identificar diferenças significativas entre as médias foram utilizadas as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas utilizando o software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Diferenças entre as médias no nível de 5% ($p < 0.05$) foram consideradas significativas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Teor de umidade, cinzas e proteína bruta

Os resultados dos teores de umidade, cinzas e proteína bruta dos frutos de grumixama em diferentes estádios de maturação estão apresentados na Tabela 2.1.

Os teores de umidade dos frutos diferentes locais de coleta, não apresentaram diferença significativa entre os estádios de maturação. Na região A, os resultados variaram de $86,18 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $87,43 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e na região B variaram de $88,08 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $89,94 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. Estes resultados são similares aos encontrados por Da Silva et al. (2014) ($90,8 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), Teixeira et al. (2015) ($88,29 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) e semelhantes aos encontrados em amora ($87,92 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), framboesa ($88,60 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), mirtilo ($87,70 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), cereja ($86,43 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (DE SOUZA et al., 2014), jabuticaba ($87,4 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (INADA et al., 2015) e superiores a juçara ($56,36 - 64,54 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (SCHULZ et al., 2015).

Na maior parte das frutas e hortaliças, os teores de umidade correspondem a 80% e 95% de sua composição (CHITARRA; CHITARRA, 2005), sendo que nas frutas o teor de umidade pode sofrer alterações durante a maturação (HUI et al., 2006).

Tabela 2.1 – Conteúdo de umidade, cinzas e proteína bruta em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos grumixama diferentes estádios de maturação nos frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)

Região A			
Estádio	Umidade (g 100 g⁻¹)	Cinzas (g 100 g⁻¹)*	Proteína bruta (g 100 g⁻¹)*
1	87,43 ± 1,70 ^a	3,61 ± 0,38 ^a	5,41 ± 0,12 ^a
2	86,24 ± 0,19 ^a	3,56 ± 0,16 ^a	4,88 ± 0,06 ^b
3	86,18 ± 0,16 ^a	2,93 ± 0,68 ^a	4,72 ± 0,16 ^b
Região B			
Estádio	Umidade (g 100 g⁻¹)	Cinzas (g 100 g⁻¹)*	Proteína bruta (g 100 g⁻¹)*
1	89,54 ± 0,36 ^a	3,70 ± 0,06 ^a	7,12 ± 0,20 ^b
2	89,94 ± 0,65 ^a	3,39 ± 0,47 ^a	8,22 ± 0,07 ^a
3	88,08 ± 0,32 ^a	3,40 ± 0,12 ^a	6,66 ± 0,34 ^b

Resultados expressos em média ± DP de três repetições. ^{a-b} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os estádios de maturação para cada região (p< 0.05) pelo Teste de Tukey.

* Valores expressos em base seca.

Fonte: próprio autor.

Os teores de cinzas não apresentaram diferença significativa entre os estádios de maturação e locais de coleta. Na região A o teor de cinzas variou de 2,93 g 100 g⁻¹ a 3,61 g 100 g⁻¹ e na região B variou de 3,39 g 100 g⁻¹ a 3,70 g 100 g⁻¹, sendo inferiores aos encontrados por Da Silva et al. (2014) (5,4 g 100 g⁻¹) e superiores aos encontrados em amora (0,21 g 100 g⁻¹), framboesa (0,25 g 100 g⁻¹), morango (0,27 g 100 g⁻¹), cereja (0,42 g 100 g⁻¹) (DE SOUZA et al., 2014), jabuticaba (3,1 g 100 g⁻¹) juçara (2,5 g 100 g⁻¹) (INADA et al., 2015) e mirtilo (1,80 g 100 g⁻¹) (REQUE et al., 2014)

Os conteúdos de proteína bruta apresentaram comportamentos distintos. Na região A, os valores de proteína variaram de 4,72 g 100 g⁻¹ a 5,41 g 100 g⁻¹, apresentando diferença significativa do estádio 1 para 2 e estádio 1 para 3. Para região B, os valores de proteína variaram de 6,66 g 100 g⁻¹ a 8,22 g 100 g⁻¹, apresentando diferença significativa do estádio 1 para 2 e estádio 2 para 3. Comportamento similar aos encontrados por Teixeira et al.(2015) (4,26 g 100 g⁻¹ a 4,37 g 100 g⁻¹) e superiores aos encontrados por Da Silva et al. (2014) (0,50 g 100 g⁻¹). Na região A, o teor de proteína bruta diminui com o avanço da

maturação e na região B, aumentou do estágio 1 para e 2 e diminui do estágio 2 para 3.

Os maiores valores de proteína foram observados nos estádios 1 da região A ($5,41 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) e estágio 2 da região B ($8,22 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), sendo estes valores similares aos encontrados em morango ($6,83 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$), cereja ($7,36 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (DE SOUZA et al., 2014), e superiores a mirtilo ($4,10 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (REQUE et al., 2014) e jabuticaba ($5,00 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$) (INADA et al., 2015).

A composição química dos frutos pode variar de acordo com a cultivar, condições edafoclimáticas e estágio de maturação (VILLANUEVA; TENORIO; MENDOZA, 2004). O conhecimento do comportamento do conteúdo dos compostos nutricionais bem como a proporção destes durante a maturação dos frutos é importante para a manutenção da qualidade nutricional e das avaliações pós-colheita (BASHIR; ABU-GOUKH, 2003).

A maturidade na colheita dos frutos é um parâmetro que determina o armazenamento e qualidade final. A maior parte dos frutos atinge a melhor qualidade quando o amadurecimento se dá na planta (SINHA et al., 2012). A qualidade dos frutos frescos e seus produtos é uma combinação de atributos, propriedades e características que agregam valor e qualidade aceitável para o consumidor (KADER, 1999).

3.2 Açúcares

Os resultados das concentrações de açúcares nos frutos em diferentes estádios de maturação estão apresentados na Tabela 2.2.

Na região A, a concentração de frutose oscilou de $4,02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $5,28 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e na região B de $3,81 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $4,40 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. A concentração de glicose na região A variou de $2,99 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $4,17 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e na região B de $3,02 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $3,46 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$. A concentração de açúcares totais na região A oscilou de $7,00 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $9,45 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ e na região B de $6,84 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ a $7,86 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$.

Tabela 2.2 – Conteúdo de açúcares em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck), expressos em matéria integral.

Região A				
Açúcares (g 100 g⁻¹)				
Estádio	Frutose	Glicose	Sacarose	Totais
1	4,02 ± 0,05 ^b	2,99 ± 0,04 ^c	ND	7,01 ± 0,09 ^b
2	4,12 ± 0,25 ^b	3,36 ± 0,23 ^b	ND	7,48 ± 0,46 ^b
3	5,28 ± 0,01 ^a	4,17 ± 0,00 ^a	ND	9,45 ± 0,01 ^a

Região B				
Açúcares (g 100 g⁻¹)				
Estádio	Frutose	Glicose	Sacarose	Totais
1	4,01 ± 0,01 ^{ab}	3,02 ± 0,05 ^b	ND	7,03 ± 0,06 ^b
2	3,81 ± 0,16 ^b	3,03 ± 0,09 ^b	ND	6,84 ± 0,25 ^b
3	4,40 ± 0,03 ^a	3,46 ± 0,02 ^a	ND	7,86 ± 0,05 ^a

Resultados expressos em média ± DP de três repetições. ^{a-c} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os estádios de maturação para cada região (p< 0.05) pelo Teste de Tukey.

ND – não detectado

Fonte: próprio autor

As maiores concentrações de frutose, glicose e consequentemente açúcares totais para a região A apresentou 5,28 g 100 g⁻¹, 4,17 g 100 g⁻¹, e 9,45 g 100 g⁻¹, respectivamente, e na região B, na ordem de 4,40 g 100 g⁻¹, 3,46 g 100 g⁻¹ e 7,86 g 100 g⁻¹, respectivamente, valores observados no estádio 3 nas duas regiões de cultivo.

Os frutos de grumixama nas duas regiões de cultivo no estádio 3, apresentaram as maiores concentrações de açúcares totais (9,45 g 100 g⁻¹), sendo superiores aos encontrados em cranberry (4,00 g 100 g⁻¹), groselhas (7,37 g 100 g⁻¹), morango (6,20 g 100 g⁻¹), uva (5,70 g 100 g⁻¹) (HUI et al., 2006), cereja (3,08 g 100 g⁻¹) (BASTOS et al., 2015) e framboesa (7,43 g 100 g⁻¹) (FU et al., 2015).

Os teores dos açúcares, glicose e frutose, aumentaram no decorrer da maturação dos frutos nas duas regiões, comportamento também observado para goiaba (HUI et al., 2006), framboesa (STAVANG et al., 2015), goji berry (ZHAO et al., 2015) e carambola (ZAINUDIN et al., 2014). O aumento dos açúcares nos frutos está relacionado com o progresso do amadurecimento pela quebra do amido (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

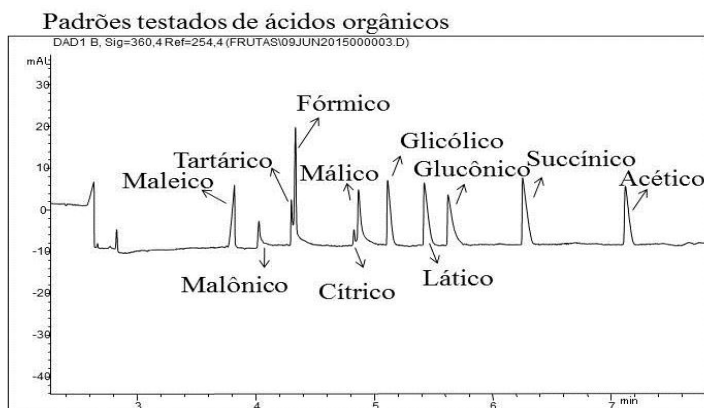
O amadurecimento dos frutos envolve várias reações químicas, devido a alterações na capacidade respiratória, enzimática e organização celular. A textura e o sabor dos frutos ocorrem principalmente na superfície do fruto. As mudanças intrínsecas estão relacionadas com o amolecimento da polpa, devido a degradação progressiva das paredes celulares de células e alterações no sabor do fruto, devido a alterações nos ácidos orgânicos e açúcares solúveis (VILLANUEVA; TENORIO; MENDOZA, 2004).

Avaliar o estágio de maturação dos frutos no momento da colheita é essencial, pois se o fruto não estiver no estágio ideal quando colhido, não irá alcançar o nível ótimo de maturação. Além disso, o acúmulo de açúcares durante o desenvolvimento do fruto é de grande importância, devido à alta correlação entre o teor de açúcar e a qualidade do fruto (VILLANUEVA; TENORIO; MENDOZA, 2004).

3.3 Perfil de ácidos orgânicos

O perfil dos ácidos orgânicos durante a maturação dos frutos das regiões de cultivo estudadas, foram avaliados frente aos padrões de ácidos maleico, malônico, tartárico, fórmico, cítrico, málico, glicólico, láctico, glucônico, succínico e acético (Figura 2.2).

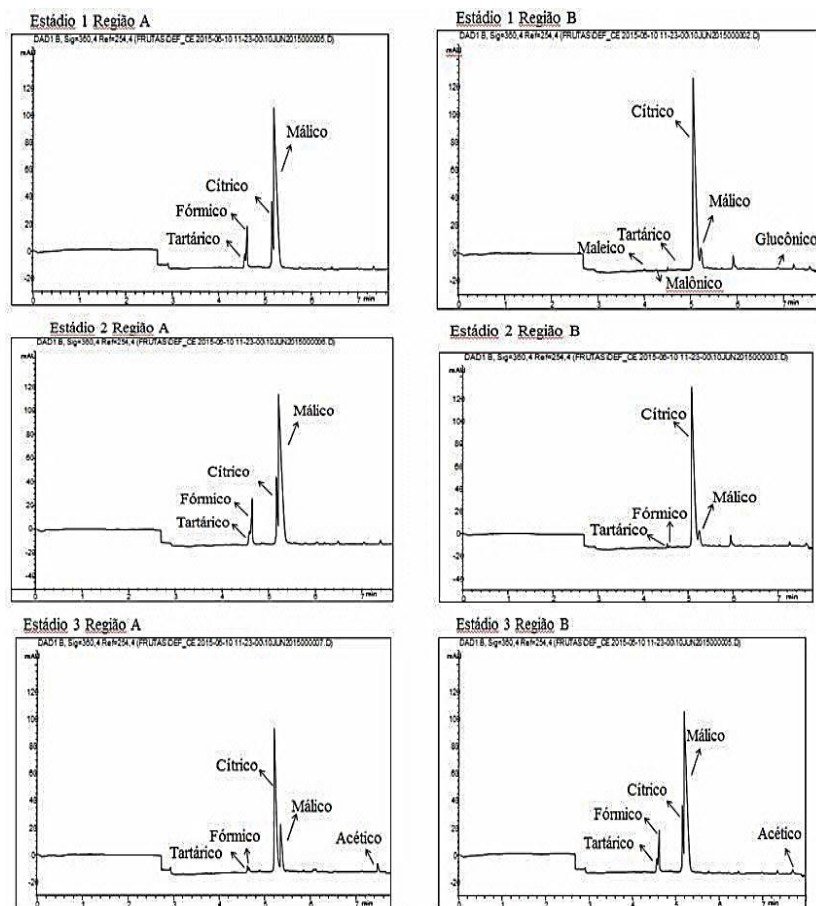
Figura 2.2 – Eletroferograma dos padrões de ácidos orgânicos



Fonte: próprio autor.

Nas amostras da região A durante a maturação, o perfil dos ácidos orgânicos identificados (Figura 2.3) observou-se que os ácidos minoritários são o tartárico, fórmico e cítrico nos estádios 1 e 2 e o ácido majoritário nestes dois estádios, dentre os pesquisados foi o málico. Em relação ao estágio 3, os ácidos minoritários identificados foram o tartárico, fórmico, málico e acético, sendo majoritário o ácido cítrico.

Figura 2.3 – Eletroferograma do perfil dos ácidos orgânicos em diferentes estádios dematuração das amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)



Fonte: próprio autor

Em relação a região B, os ácidos identificados no estágio 1 foram maleico, malônico, tartárico, málico, glucônico como minoritários e majoritário o ácido cítrico. Para o estágio 2, os ácidos minoritários foram tartárico, fórmico e málico e o majoritário foi o ácido cítrico. Para o estágio 3, os ácidos minoritários foram o tartárico, fórmico, cítrico e acético, e majoritário o ácido málico.

Para os frutos grumixama no estágio final, os ácidos orgânicos majoritários foram cítrico e málico. Resultados similares foram encontrados para goji berry (ZHAO et al., 2015), morango (ORNELAS-PAZ et al., 2013), cereja (GIRARD; KNOPP, 1998), jabuticaba (LIMA et al., 2011) e amora (KAFKAS et al., 2006).

Os ácidos orgânicos presentes nos frutos são considerados parâmetros importantes com influência expressiva no sabor (CHEN; LIU; CHEN, 2009, PANDE; AKOH, 2010). Os ácidos orgânicos geralmente se acumulam nas fases iniciais do desenvolvimento do fruto e são utilizados como substratos respiratórios durante o amadurecimento (SINHA et al., 2012).

Na maioria dos frutos, os principais ácidos orgânicos presentes são o málico o qual tem função de controlar a abertura dos estômatos e auxilia na nutrição da planta, e o cítrico que possui a capacidade de quelar metais oxidantes (SINHA et al., 2012). A concentração final dos ácidos orgânicos em frutos maduros é determinada pelo equilíbrio da biossíntese, degradação e armazenamento nos vacúolos das células (CHEN; LIU; CHEN, 2009). Quanto aos açúcares são importantes na manutenção da qualidade e valor nutricional dos frutos, e nas propriedades organolépticas. O conhecimento das alterações destes compostos durante o amadurecimento dos frutos é essencial devido ao seu impacto na qualidade final (GLEW et al., 2003).

3.4 Minerais

As concentrações de minerais durante a maturação dos frutos nas regiões estudadas estão apresentadas na Tabela 2.3. A maior concentração total foi observada nos estádios 1 e 2 da região A, porém sem diferença significativa entre estes estádios. O potássio apresentou as maiores concentrações, enquanto o manganês ficou abaixo do limite de detecção em todas as amostras analisadas. Este comportamento também foi observado em amostras de polpa de frutos da palmeira juçara (SCHULZ et al., 2015) e romã (FAWOLE; OPARA, 2013).

Tabela 2.3 – Conteúdo de minerais majoritários em diferentes estádios de maturação das amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)

Região A					
Estádio	Minerais (mg 100 g⁻¹)				
	K	Na	Ca	Mg	Totais
1	476,61 ± 13,96 ^b	42,84 ± 3,23 ^b	149,02 ± 12,15 ^a	80,18 ± 6,00 ^a	748,67 ± 35,34 ^a
2	589,30 ± 1,78 ^a	26,37 ± 0,38 ^b	73,31 ± 2,38 ^b	40,48 ± 0,61 ^b	729,46 ± 0,36 ^a
3	361,01 ± 0,18 ^c	117,51 ± 6,62 ^a	84,51 ± 5,54 ^b	44,64 ± 2,42 ^b	607,68 ± 14,76 ^b
Região B					
Estádio	Minerais (mg 100 g⁻¹)				
	K	Na	Ca	Mg	Totais
1	437,93 ± 25,52 ^a	49,87 ± 1,81 ^a	75,52 ± 5,28 ^a	70,58 ± 4,95 ^a	663,91 ± 37,56 ^a
2	329,95 ± 2,70 ^b	36,24 ± 0,46 ^b	55,01 ± 0,67 ^b	62,87 ± 0,87 ^{ab}	484,08 ± 3,36 ^b
3	350,63 ± 9,68 ^b	20,89 ± 0,78 ^c	45,37 ± 0,02 ^b	52,64 ± 0,82 ^b	469,53 ± 9,69 ^b

Resultados expressos em amostras *in natura* como média ± DP de três repetições. ^{a-c} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os estádios de maturação para cada região (p < 0.05) pelo Teste de Tukey.

Fonte: próprio autor.

Na região A, a concentração de potássio variou de 361,01 mg 100 g⁻¹ a 589,30 mg 100 g⁻¹, sendo que a concentração deste mineral aumentou do estádio 1 para 2 e decresceu no estádio 3. Na região B, a concentração de potássio variou de 329,95 mg 100 g⁻¹ a 437,93 mg 100 g⁻¹, apresentando redução da concentração dos estádios 1 para 2 e sem diferença significativa entre os estádios 2 e 3. A maior concentração de potássio foi observada no estádio 2 da região A (589,30 mg 100 g⁻¹), vindo de encontro ao descrito na literatura como mineral predominante em frutas, associado ao aumento da acidez e realce da cor das frutas (KOBELITZ, 2011), com funções como ativador de várias enzimas durante a fotossíntese, respiração e síntese proteica, além de requerido pelas plantas para o uso eficiente da água disponível no solo (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

As maiores concentrações de sódio, foram observadas no estádio 3 (117,51 mg 100 g⁻¹) na região A, aumentando no decorrer da maturação. Esta tendência também foi observada em nêspera (ROP et al., 2011). A maior concentração de sódio na região A, pode ser explicado considerando a proximidade do local de coleta com o mar. Na região B, a concentração de sódio diminuiu com o avanço da maturação dos frutos, sendo este comportamento também observado em frutos da palmeira juçara (SCHULZ et al., 2015).

A maior concentração de magnésio na região A foi observada no estádio 1 (80,18 mg 100 g⁻¹) e para região B, o estádio 1 e 2 apresentaram as maiores concentrações, 70,58 mg 100 g⁻¹, 62,87 mg 100 g⁻¹, respectivamente, não apresentando diferenças significativas entre estes estádios. A concentração de cálcio e magnésio diminuiu durante a maturação dos frutos nos dois locais de coleta. Este comportamento também foi encontrado para açaí (GORDON et al., 2012) e nêspera (ROP et al., 2011). O cálcio é um mineral absorvido pelas raízes, e tem sua concentração em frutos declinando rapidamente com a maturidade. Além disso, atua na preservação da funcionalidade das membranas celulares e manutenção da consistência firme dos frutos (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Este mineral também está relacionado com redução da taxa de produção de CO₂ e etileno bem como na velocidade do amadurecimento (KOBELITZ, 2011). Para o magnésio, atua como importante componente da clorofila (DAMODARAM; PARKIN; FENNEMA, 2009; KOBELITZ, 2011) e deste modo frutos em estádios iniciais apresentam maiores concentrações (ADEYEMI; OLADIJI, 2009).

Os minerais presentes nas frutas desempenham um papel importante na manutenção da qualidade nutricional (MIRDEHGHAN;

RAHEMI, 2007), sendo os minerais, nutrientes essenciais ao organismo como reguladores nos processos fisiológicos (BERTO et al., 2015; PEREIRA et al., 2014). As variações dos teores podem ser atribuídas a nutrição da planta e a condições de solo e clima (FAWOLE; OPARA, 2013).

4. CONCLUSÃO

Dos parâmetros analisados, as concentrações de umidade e resíduo mineral fixo não apresentaram alterações no decorrer da maturação. Para proteína bruta, as maiores concentrações foram observadas nos estádios iniciais e maiores concentrações de açúcares foram observadas no estágio 3. O perfil dos ácidos orgânicos apresentou oscilações durante a maturação e os ácidos majoritários no estágio final foram cítrico e málico. A concentração de minerais foi mais expressiva nos estádios iniciais, sendo o potássio o mineral majoritário.

Os resultados apresentados mostram que as concentrações dos compostos químicos e nutricionais estão diretamente relacionadas e influenciadas pelas fases de maturação e região de cultivo. A avaliação do comportamento destes compostos no decorrer da maturação dos frutos é essencial para garantir qualidade e conteúdo de nutrientes nas frutas.

**CAPÍTULO 3 – SCREENING DE SOLVENTES E SISTEMAS DE
EXTRAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DE COMPOSTOS
FENÓLICOS TOTAIS E CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM
FRUTOS DE GRUMIXAMA (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)**

RESUMO

A grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck), fruto nativo da mata Atlântica, encontrado desde o Sul da Bahia até Santa Catarina, destaca-se como fruto com potencial a ser pesquisado, devido às propriedades bioativas e nutricionais presentes em sua composição. Não há estudos publicados até o momento, os quais tenham avaliado a melhor condição de extração e eficiência de solventes para avaliação das características bioativas destes frutos. Neste contexto o estudo realizado buscou definir o melhor solvente extrator e mecanismo de extração para quantificar os compostos fenólicos totais, a capacidade antioxidante e redutora e a quantificação de antocianinas monoméricas totais na fração comestível dos frutos. Foram avaliados 14 solventes e 3 mecanismos de extração distintos para análise dos compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante e para antocianinas monoméricas totais foram avaliados 13 solventes distintos. Os resultados mostraram que a acetona/água (80:20, v/v) e o mecanismo de extração por agitação magnética, foi o sistema extrator mais eficiente para compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante e para antocianinas monoméricas totais, o etanol/HCl 1,5 M apresentou os melhores resultados como solvente extrator, definindo assim a influência direta da condição de extração e solvente aplicado no rendimento e qualidade dos extratos.

Palavras-chave: Capacidade antioxidante. Antocianinas totais. Compostos fenólicos totais. *Eugenia brasiliensis* Lamarck. Sistemas de extração.

1 INTRODUÇÃO

Na grande biodiversidade presente nos biomas brasileiros, encontram-se várias espécies de frutas nativas (ROSSO, 2013). A maior parte destas espécies possuem características sensoriais peculiares e concentrações elevadas de nutrientes (CÂNDIDO; SILVA; AGOSTINI-COSTA, 2015; DE SOUZA et al., 2012). Estas frutas em sua grande maioria apresentam compostos bioativos em sua composição, tais como compostos fenólicos, carotenoides, vitaminas e minerais, com potencial para diminuir a concentração de radicais livres no organismo, inibindo o estresse oxidativo, atuando como antioxidantes e anticancerígenos (ALMEIDA et. al., 2011).

A *Eugenia brasiliensis* Lamarck, popularmente conhecida por grumixama, é uma planta nativa oriunda da mata pluvial Atlântica, encontrada desde o Sul da Bahia até Santa Catarina (LORENZI et al., 2006; SARTORI, 2012). Seu cultivo comercial começou nos últimos anos, representando potencial econômico devido aos atributos sensoriais peculiares e compostos fenólicos presentes em sua composição (TEIXEIRA et al., 2015), o que vem de encontro à busca por novas frutas nativas com propriedades bioativas.

Estudos *in vitro* tornam-se cada vez mais importantes por buscarem estabelecer de maneira preliminar informações a respeito do potencial bioativos de frutas (PATIL et al., 2009). Várias são as metodologias desenvolvidas e empregadas para a extração de compostos fenólicos de fontes vegetais, podendo variar desde solventes a condições extratoras (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009).

Os compostos fenólicos tem sua solubilidade dependente da natureza dos mesmos, seja como substâncias simples ou altamente polimerizadas e são encontrados em quantidades variáveis como ácidos fenólicos, fenilpropanoides, antocianinas, taninos, entre outros com solubilidade afetada diretamente pela polaridade dos solventes utilizados nos processos extrativos (NACZK; SHAHIDI, 2006).

As antocianinas, pigmentos relativamente instáveis, são sensíveis a reações de degradação e sua maior estabilidade ocorre em condições ácidas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; FERNANDES et al., 2014; PASCUAL-TERESA; SANCHEZ-BALLESTA, 2008), consequentemente são extraídas com solventes orgânicos polares acidificados (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Para avaliar o sistema de extração deve-se considerar a seletividade dos componentes de interesse, recuperação do analito,

volume do solvente orgânico necessário, toxicidade do solvente e tempo de extração. Neste contexto, a escolha do sistema de extração depende também de fatores como o custo, simplicidade de operação, bem como a disponibilidade de um método padrão ou validado (COTTA; REZENDE; LANDGRAF, 2009).

Os sistemas de extração e sua eficiência são influenciados por vários fatores tais como método de extração, tipo de solvente, tempo de contato, temperatura de extração, proporção de amostra e solventes, tamanho das partículas da amostra, estrutura química dos compostos fenólicos, condições de armazenamento bem como a presença de substâncias interferentes. Entretanto, o tipo de solvente é o fator de maior importância na eficiência da extração (BOEING et al., 2014; DE LA ROSA; ALVAREZ-PARRILLA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2010; DENT et al., 2013; FATIHA et al., 2012; RIZVI, 2010).

Não há estudos publicados até o momento, relacionando a melhor condição de extração e especificidade de solvente para frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck). Avaliando a necessidade destas informações e estudos relacionados, buscou-se testar alguns sistemas de extração, definindo o solvente extrator e mecanismo de extração mais efetivo para quantificação de compostos fenólicos totais, antocianinas totais e a capacidade antioxidante e redutora de amostras de frutos da grumixameira.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes

Para as análises foram utilizados: reagente de Folin Ciocalteu, carbonato de sódio, DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), acetato de sódio, ácido cítrico, ácido clorídrico e álcool metílico adquiridos da Sigma-Aldrich Chemical Co. (St. Louis, EUA). Ácido gálico, acetona e cloreto de potássio obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). Etanol obtido da F. Maia Indústria e Comércio Ltda (São Paulo, Brasil) e água desionizada obtida através desistema de ultra purificação, Simplicity UV MilliQ (desionizador MilliQ, Millipore, Bedford, E.U.A.).

2.2 Amostragem

As amostras dos frutos de grumixama foram coletadas no município de Florianópolis (latitude 27° 35' 48", longitude 48° 32' 57) Santa Catarina, Brasil, durante os meses de novembro e dezembro de

2014, em árvores sadias, apresentando frutos em diferentes estádios de maturação, desde fases iniciais a final. Para os testes propostos, massas de aproximadamente 100 g de frutos sadios, totalmente maduros (tonalidades preta), foram coletados, acondicionados em caixas isotérmicas refrigeradas e transportados ao Laboratório de Química de Alimentos da UFSC. No laboratório os frutos, foram higienizados em água potável, seguidos de lavagem com água desionizada, drenados e dispostos em embalagens de polietileno, sob atmosfera de nitrogênio (N_2), seladas hermeticamente e mantidas à $-18 \pm 2^\circ C$ em freezer (Consul modelo CV1U66BNA, Santa Catarina, Brasil) até o momento das análises. No momento das análises as amostras ainda congeladas foram despulpadas manualmente e a fração polpa e casca (epicarpo e mesocarpo) trituradas em moinho de bancada (IKA modelo A49, São Paulo, Brasil), e submetidas imediatamente as extrações e quantificações propostos a seguir.

2.3 Screening para definição do solvente extrator mais efetivo quanto a concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante

A seleção do melhor solvente extrator foi realizada utilizando massas de 5g de amostra devidamente medidas em balança analítica (Mettler Toledo AB 204-SRS, Schweiz, Suíça), acondicionadas em tubos de polietileno tipo Falcon com capacidade de 50 mL, seguidos da adição de 25mL do solvente extrator a ser testado. O experimento foi conduzido com 14 solventes distintos, sendo: 1 - acetona concentrada; 2 - acetona/água (80:20 v/v); 3 - acetona/água (80:20 v/v 0,01M HCl); 4 - água contendo 0,1 M HCl; 5- água contendo 0,01 M HCl; 6 - etanol absoluto; 7 - etanol contendo 0,01 M HCl; 8 - etanol/água (70:30 v/v); 9 - etanol/água (50/50 v/v); 10 - metanol concentrado; 11- metanol 1M HCl; 12 - metanol 0,1 M HCl; 13 - metanol contendo 0,01 M HCl; 14 - metanol/água (50:50 v/v), de acordo com metodologia descrita por Borges et al. (2011). Os frascos contendo amostras e solventes foram submetidos à extração em banho ultrassom (Unique, modelo USC-1400, São Paulo, Brasil) por 15 min à temperatura ambiente, centrifugados a 2000 g por 10 minutos em centrífuga (Fanem, modelo 280 R, São Paulo, Brasil) sendo os sobrenadantes reservados para quantificação de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, de acordo com os métodos descritos nos itens 2.5 e 2.6.

2.4 Screening para escolha do mecanismo de extração mais efetivo quanto à concentração de fenólicos totais e capacidade antioxidante

Considerando os resultados obtidos no *screening* para definição do solvente extrator, um novo arranjo foi organizado considerando as três respostas mais efetivas (item 2.3), buscando definir o conjunto solvente e mecanismo de extração mais efetivos para compostos fenólicos totais (FT) quantificados aplicando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) e capacidade antioxidante (CA) avaliada através do método de captura de radicais livres DPPH descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) com modificações de Kim et al. (2002). Os três melhores solventes obtidos em resposta a avaliação anterior (item 2.3) foram testados em triplicata considerando três mecanismos de extração distintos, mantendo a relação massa de amostra e volume de solvente utilizada no item 2.3: A – Extração por 1h em temperatura ambiente com agitação magnética 1800 rpm (agitador magnético Fisatom, modelo 752A, São Paulo, Brasil); B - Extração por 1h sob refrigeração (refrigerador Consul modelo 280 L, São Paulo, Brasil) com agitação magnética 1800 rpm (agitador magnético Fisatom modelo 752A, São Paulo, Brasil); C - Extração por 1h em banho ultrassom (Unique, modelo USC-1400, São Paulo, Brasil) $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Os extratos foram centrifugados a 2000g por 10 minutos em centrífuga (Fanem, modelo 280 R São Paulo, Brasil) e os sobrenadantes submetidos a quantificação de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, conforme os itens 2.5 e 2.6.

2.5 Conteúdo de fenólicos totais (FT)

As concentrações de compostos fenólicos totais foram avaliadas em triplicata de reação em balões volumétrico de 10 mL, adicionados de 2,5 mL de água desionizada, 100 μL dos respectivos extratos, 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu, submetidos a agitação para completa homogeneização, adicionados de carbonato de sódio 20% m/v (1,5mL) e volume ajustado para 10 mL com água desionizada, novamente homogeneizados, mantidos ao abrigo da luz em temperatura ambiente por 120 minutos e submetidos a leitura da absorbância à 765 nm (espectrofotômetro modelo UV-Vis Spectro Vision SB 1810-S, Beijing, China). Os resultados foram calculados a partir de curva padrão de ácido gálico ($50 - 500 \text{ mg L}^{-1}$) construída em paralelo para o conteúdo de FT e expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g^{-1} da amostra *in natura*.

2.6 Capacidade antioxidante (CA) dos extratos

O potencial antioxidante dos extratos foram determinados aplicando volumes de 2,9 mL do radical DPPH (100 μmol), distribuídos em triplicata de reação em cubetas, previamente lavadas com álcool absoluto e secas, e a leitura da absorbância inicial (A_0) realizada a 515 nm (espectrofotômetro modelo Spectro Vision SB 1810-S, Beijing, China). Em seguida e com o tempo cronometrado, foram adicionadas 100 μL dos extratos preparados conforme descrito no item 2.4. As cubetas contendo o sistema reacional (radical DPPH + extrato) permaneceram ao abrigo da luz por exatos 30 minutos (A_{30}), com leitura simultânea da absorbância. As porcentagens de inibição foram calculadas através da equação 1:

$$\% \text{ Inibição do radical DPPH} = \left[1 - \left(\frac{A_{30}}{A_0} \right) \right] * 100 \text{ (Equação 1)}$$

Os valores da capacidade antioxidante das amostras foram expressos em equivalentes a ácido ascórbico (EAA) 100 g^{-1} das amostras *in natura* por equivalência a curva de calibração (20 – 140 mg L^{-1}) construída em paralelo.

2.7 Screening de solvente extrator mais efetivo para quantificação de antocianinas monoméricas totais (AMT)

A seleção do melhor solvente extrator para quantificação de antocianinas monoméricas totais, utilizando o processo de extração exaustiva por maceração e quantificação através do método espectrofotométrico de diferença de pH descrito por Giusti e Wrolstad (2001), foi realizada utilizando frações de 5 g das amostras previamente preparadas (item 2.2) acondicionadas em frascos âmbar e mantidas sob refrigeração $5 \pm 2^\circ\text{C}$ ao abrigo da luz por 24 horas após adicionadas de 25 mL do solvente específico, totalizando 13 solventes distintos, sendo os quais: 1- solução aquosa de ácido cítrico 0,1 M; 2- solução aquosa de ácido cítrico 0,01M; 3 - solução aquosa de ácido clorídrico 0,1M; 4 - solução aquosa de ácido clorídrico 0,01M; 5 - metanol concentrado; 6 - metanol : água (50:50, v/v); 7 - ácido clorídrico 0,01M em metanol; 8 - ácido clorídrico 1,5 M em metanol; 9 - etanol absoluto; 10 - etanol absoluto: água (70:30, v/v); 11 - etanol absoluto : água (50:50, v/v); 12 - ácido clorídrico 0,01M HCl M em etanol absoluto; 13 - ácido clorídrico 1,5 M em etanol absoluto, de acordo com a metodologia descrita por

Borges et al. (2011). Após maceração, os extratos foram filtrados com papel filtro *Whatman* n° 1 e reservado para a determinação de antocianinas monoméricas totais.

2.8 Quantificação das antocianinas monoméricas totais

A concentração de AMT foi analisada através do método espectrofotométrico de diferença de pH descrito por Giusti e Wrolstad (2001), com as absorbâncias dos extratos obtidas em 515 nm e 700 nm respectivamente, calculados de acordo com a equação 2 e expressos em mg equivalentes a cianidina-3-glicosídeo por 100 g⁻¹ de amostra *in natura*:

$$AMT = \frac{A \cdot MM \cdot 1000 \cdot FD_p \cdot FD_a}{\varepsilon \cdot 1 \cdot 10} \text{ (Equação 2)}$$

Onde: A = absorbância (A₅₁₅ - A₇₀₀) em pH 1,0 - (A₅₁₅ - A₇₀₀) em pH 4,5; MM = massa molecular = 449,2 g mol⁻¹; 1000 = fator de conversão de g para mg; FD_p = fator de diluição da amostra nos tampões; FD_a = fator de diluição da massa da amostra num volume adequado de solvente; ε = absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo (26.900 L mol⁻¹ cm⁻¹); 1 = comprimento de onda em cm; 10 = fator de conversão de kg para 100g.

2.9 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata de preparo e de análise e para identificar diferenças significativas entre as médias foram utilizadas as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas utilizando o software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Diferenças entre as médias no nível de 5% (p<0.05) foram consideradas significativas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 *Screening* para definição do solvente extrator

Os resultados obtidos para a seleção do solvente extrator estão apresentados na Tabela 3.1, indicando que a extração de FT e CA, são dependentes dos solventes utilizados e apresentam diferenças estatísticas significativas (p < 0.05).

Tabela 3.1 – Conteúdo de fenólicos totais e capacidade antioxidante *in vitro* em amostras (epicarpo e mesocarpo) de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) em diferentes solventes

Solventes	FT*	DPPH**
Acetona concentrada	494,05 ± 7,40 ^{bc}	457,20 ± 0,20 ^c
Acetona/água (80:20 v/v)	544,73 ± 11,10 ^a	500,63 ± 0,41 ^b
Acetona/água (80:20 v/v) 0,01 M HCl	467,69 ± 5,52 ^{bcd}	332,24 ± 8,70 ^e
Água miliq 0,1 M HCl	415,83 ± 6,62 ^e	170,47 ± 2,62 ⁱ
Água miliq 0,01M HCl	270,86 ± 4,05 ^g	178,09 ± 2,15 ^{hi}
Etanol absoluto	397,80 ± 16,22 ^e	337,29 ± 7,14 ^e
Etanol 0,01 M HCl	316,30 ± 19,48 ^f	193,11 ± 0,38 ^g
Etanol/água (70:30 v/v)	576,99 ± 6,54 ^a	519,89 ± 1,35 ^a
Etanol/água (50:50 v/v)	333,42 ± 2,58 ^f	308,25 ± 0,45 ^f
Metanol concentrado	460,89 ± 5,14 ^{cd}	383,27 ± 0,38 ^d
Metanol 1M HCl	500,66 ± 10,56 ^b	-
Metanol 0,1 M HCl	568,27 ± 8,82 ^a	-
Metanol 0,01 M HCl	432,40 ± 3,32 ^{de}	-
Metanol/água (50:50 v/v)	155,77 ± 2,58 ^h	186,43 ± 1,28 ^{gh}

Resultados expressos em amostras *in natura* como média ± DP de três repetições. ^{a-i} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística (p< 0.05) pelo Teste de Tukey.

* Valores expressos em mg equivalentes a ácido gálico (EAG) 100 g⁻¹

** Valores expressos em mg equivalentes a ácido ascórbico (EAA) 100 g⁻¹

- (não determinado)

Fonte: próprio autor

Os resultados demonstraram que para fenólicos totais, foi possível identificar três solventes como sendo efetivos: etanol/água (70:30 v/v) seguido de ácido clorídrico 0,1 M HCl em metanol e acetona/água (80:20 v/v), os quais extraíram 576,99 mg EAG 100 g⁻¹, 568,27 mg EAG 100 g⁻¹ e 544,73 mg EAG 100 g⁻¹, respectivamente, não apresentando diferenças significativas (p<0.05) entre eles. Considerando que a polaridade dos compostos fenólicos pode variar de polar à apolar (DENT et al., 2013), estudos prévios para seleção do solvente ideal são necessários para cada tipo de substrato, até que tenha-se garantia do perfil de compostos presentes na amostra e da ação sinérgica e antagonista dos mesmos para com a solubilidade.

Solventes como metanol, etanol, acetona e suas misturas com água, são os mais utilizados como extratores para uma grande variedade de compostos fenólicos de diversas estruturas, assim como a

combinação de água com outros solventes orgânicos contribui para um meio moderadamente polar, assegurando a extração dos compostos fenólicos (FATIHA et al., 2012).

Combinações de acetona e água são indicadas principalmente para extração de compostos polares (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009). Entretanto, solventes como etanol combinado com água, pode ser o sistema de solvente mais adequado para a extração dos compostos fenólicos de origem vegetal, além de maior aceitabilidade para extratos utilizados no consumo humano (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009; DENT et al., 2013).

Para a capacidade antioxidante, os resultados indicaram o solvente etanol/água (70:30 v/v) como o solvente mais eficiente, seguido de acetona/água (80:20) e acetona concentrada, os quais extraíram 519,89 mg EAA 100 g⁻¹, 500,63 mg EAA 100 g⁻¹, 457,20 mg EAA 100 g⁻¹, respectivamente. O solvente metanol acidificado com HCl, não possibilitou determinar a capacidade antioxidante, devido ao excesso de prótons (H⁺) presente no solvente, os quais interferem na reação e consequente medida da capacidade antioxidante, além do radical DPPH ser fortemente influenciado pelo pH da solução (MAGALHAES et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2009; SHAHIDI, ZHONG, 2015).

Os resultados obtidos na primeira etapa permitiu definir como solventes extratores mais efetivos dentre os testados para FT e AA: acetona/água (80:20 v/v), etanol/água (70:30 v/v) e acetona concentrada.

3.2 Resultados de *screening* do mecanismo de extração

A partir dos resultados obtidos no item 3.1, o mecanismo de extração mais efetivo foi avaliado a partir de três mecanismos de extração distintos: agitação magnética (A), agitação magnética ao abrigo da luz sob refrigeração (B) e banho ultrassom (C).

De acordo com a Tabela 3.2 os resultados demonstraram que para FT e CA, o solvente acetona/água (80/20, v/v) apresentou-se como o solvente mais eficiente quando aplicado o mecanismo de extração agitação magnética (A). Estes resultados mostram que a polaridade do solvente interferiu diretamente na eficiência da extração, apresentando que quanto mais polar, maior a eficiência na extração dos compostos fenólicos para a matriz analisada (HEMALI; SUMITRA, 2014). Já o mecanismo de extração, deve permitir a completa extração dos compostos de interesse, sem modificar quimicamente os compostos extraídos (EL-CHAGHABY; AHMAD; RAMIS, 2014). A agitação

magnética, indicado como melhor mecanismo de extração, permite através do choque das partículas, promover a difusão dos analitos da amostra com o agente extrator (BALTUSEN; CRAMERS; SANDRA, 2002).

Tabela 3.2 – Concentração de fenólicos totais e potencial antioxidante em amostras (epicarpo e mesocarpo) de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) para diferentes solventes e mecanismos de extração

Mecanismo de Extração	Solvente	FT*	DPPH**
A	Acetona concentrada	549,61 ± 25,13 ^b	489,72 ± 14,26 ^b
B		499,99 ± 14,80 ^{bc}	475,83 ± 6,63 ^b
C		306,10 ± 7,77 ^d	334,82 ± 7,14 ^d
A	Acetona/água (80:20, v/v)	609,51 ± 15,51 ^a	557,74 ± 22,90 ^a
B		508,60 ± 8,52 ^{bc}	491,08 ± 1,78 ^b
C		274,95 ± 4,81 ^d	320,36 ± 7,01 ^d
A	Etanol/água (70:30, v/v)	521,65 ± 14,03 ^{bc}	466,43 ± 4,84 ^b
B		471,42 ± 7,76 ^c	409,26 ± 1,85 ^c
C		131,05 ± 5,91 ^e	152,38 ± 3,57 ^e

Resultados expressos em amostras *in natura* como média ± DP de três repetições. ^{a-e} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística (p< 0.05) pelo Teste de Tukey.

Mecanismo de extração: A = agitação magnética; B = agitação magnética ao abrigo de luz sob refrigeração; C = ultrassom.

* Valores expressos em mg equivalente a ácido gálico (EAG) 100 g⁻¹ de amostra *in natura*.

** Valores expressos em mg equivalente a ácido ascórbico (EAA) 100 g⁻¹ de amostra *in natura*.

Fonte: próprio autor

A combinação dos solventes acetona/água para extração de compostos fenólicos totais também foi encontrada para mirtilo (KAHKÖNEN; HOPIA; HEINONEN, 2001), framboesa, groselha preta (MOYER et al., 2002), pitanga (ROCHA et al., 2011) e morango (KOSAR et al., 2004) assim como para capacidade antioxidante em mirtilo, cranberry (ZHENG; WANG, 2003), framboesa e groselha preta (MOYER et al., 2002).

3.3 Resultado do *screening* para solvente mais efetivo quanto a concentração de antocianinas monoméricas totais

Os resultados estão apresentados na Tabela 3.3, indicando que a extração de AMT é dependente do solvente utilizado, apresentando diferenças estatísticas significativas ($p < 0.05$).

Tabela 3.3 – Conteúdo de antocianinas monoméricas totais em amostras (epicarpo e mesocarpo) de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) em diferentes solventes.

Solventes	AMT*
Água/ácido cítrico 0,1M	$11,27 \pm 3,21^{ef}$
Água/ ácido cítrico 0,01M	$5,55 \pm 0,31^f$
Água/HCl 0,01M	$2,98 \pm 2,30^f$
Água/HCl 0,1M	$0,70 \pm 0,85^f$
Etanol absoluto	$35,70 \pm 2,20^{bc}$
Etanol/HCl 0,01M	$41,70 \pm 4,13^b$
Etanol/água (70:30, v/v)	$39,22 \pm 1,22^{bc}$
Etanol/água (50:50, v/v)	$31,25 \pm 0,73^{bcd}$
Etanol/HCl 1,5M	$82,81 \pm 0,87^a$
Metanol concentrado	$31,08 \pm 3,83^{bcd}$
Metanol/água (50:50, v/v)	$22,65 \pm 1,45^{de}$
Metanol/HCl 0,01M	$27,63 \pm 1,32^{cd}$
Metanol/HCl 1,5M	$77,25 \pm 3,74^a$

Resultados expressos em amostras *in natura* como média \pm DP de três repetições. ^{a-f} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística ($p < 0.05$) pelo Teste de Tukey.

* Valores expressos em mg equivalentes a cianidina-3-glicosídeo por 100 g⁻¹

Fonte: próprio autor

Os resultados identificaram dois solventes entre os testados, como os mais eficientes para extração: etanol/HCl 1,5M e metanol/HCl 1,5M, os quais extraíram 82,81 mg cianidina-3-glicosídeo 100 g⁻¹ e 77,25 mg cianidina-3-glicosídeo 100 g⁻¹ respectivamente, não apresentando diferença significativa entre eles. Observa-se ainda que solventes acidificados com baixa concentração de HCl, não se mostraram eficientes na extração de AMT.

Os pigmentos antociânicos não apresentam estabilidade em soluções neutras e alcalinas, necessitando de solventes protonados como extratores, a fim de romper as membranas celulares, dissolver e

estabilizar as antocianinas. A adição de ácidos orgânicos aos solventes potencializa a extração, sendo comumente utilizado o ácido clorídrico (GOULD; DAVIES; WINEFIELD, 2009). A presença do ácido altera a estrutura original da antocianina, quebrando ligações com metais e co-pigmentos (NACZK; SHAHIDI, 2004).

Os solventes comumente empregados na extração das antocianinas de matriz vegetal são metanol, etanol, acetona, água acidificados e também misturas de acetona/metanol/água (HUA et al., 2013) sendo o metanol acidificado o solvente mais eficiente para a extração. Entretanto, o etanol possui maior preferência devido a alta toxicidade do metanol (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009; HUA et al., 2013).

A partir dos resultados obtidos, definiu-se etanol/HCl 1,5 M como melhor solvente extrator para AMT, devido a baixa toxicidade deste solvente e menor custo em relação ao metanol. O solvente etanol acidificado também foi encontrado para extração de AMT em amora (JACQUES et al., 2010), baguaçu (KUSKOSKI et al., 2003) e pitanga (BAGETTI et al., 2011).

4 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram que o solvente composto pela mistura acetona/água (80:20, v/v) associado ao mecanismo de extração por agitação magnética, foi o sistema extrator mais eficiente para a matriz avaliada, apresentando as maiores concentrações de compostos fenólicos totais e o maior potencial antioxidante em seus extratos. Para a extração de antocianinas monoméricas totais, o solvente etanol/HCl 1,5M, se apresentou como o melhor solvente extrator dentre os avaliados. Este estudo serviu como ensaio prévio para a caracterização química e capacidade antioxidante de amostras de frutos de grumixama em diferentes estádios de maturação, uma vez que não há relatos bibliográficos até o presente momento correlacionando solventes e sistema extrator e suas efetividades para os frutos de grumixama.

**CAPÍTULO 4 – COMPOSTOS FENÓLICOS E CAPACIDADE
ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE GRUMIXAMA (*Eugenia
brasiliensis* Lamarck) EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE
MATURAÇÃO**

RESUMO

A grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) nativa da Mata Atlântica, porém desconhecido pela maior parte da população. Estudos tem relatado a presença de compostos bioativos principalmente em suas folhas e pouco tem sido relatado sobre os seus frutos. A falta de parâmetros padronizados que indiquem o estágio de maturação ideal para a colheita dos frutos e o efeito da maturação sobre os teores dos compostos bioativos e a capacidade antioxidante dos frutos ainda não foram elucidados. A busca pela valorização das espécies nativas e novas fontes de compostos químicos com propriedade bioativa nos diferentes estádios de maturação e regiões de coleta distintas, foram os objetivos deste estudo. O conteúdo de compostos fenólicos totais apresentou maiores valores no estágio 2 e para taninos condensados no estágio 3, sendo observado nas duas regiões de coleta. Para antocianinas monoméricas totais os maiores valores foram encontrados no estágio 3 na região A e nos estádios 2 e 3 para a região B. A maior capacidade antioxidante e redutora dos frutos grumixama foram observadas na região A no estágio 2 pelo método DPPH e estágio 3 pelo método FRAP. Já para a região B os maiores valores da capacidade antioxidante foram identificadas no estágio 3 para ambos os métodos aplicados. Na avaliação dos compostos fenólicos por HPLC-ESI-MS/MS, foram identificados 19 compostos distintos, sendo o p-cumárico, catequina, quercetina, taxifolina e isoquercetina encontrados na forma livre e conjugada em todos os estádios de maturação nas regiões de coleta. Dessa forma, se evidenciou a influência da maturação e região de cultivo dos frutos sobre a composição química e capacidade antioxidante, podendo-se definir os melhores estádios 2 e 3 com os que apresentam o maior conteúdo de compostos fenólicos e capacidade antioxidante.

Palavras-chave: Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck). Compostos fenólicos. Capacidade antioxidante. Antocianinas. Maturação.

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o mercado e os centros de pesquisas apontam para um aumento na importância do consumo das frutas, como diferencial para a saúde, aliados as tendências internacionais as quais indicam crescente demanda por frutas e produtos à base de frutas, como promotores de bem-estar e alimentação saudável (PORTES, 2009).

A fruticultura brasileira apresenta uma grande variedade de frutas nativas, decorrente da ampla extensão territorial e diversas condições climáticas (PAZ et al., 2015; PEREIRA et al., 2013).

A família Myrtaceae representa uma das famílias mais expressivas e de maior abundância na Mata Atlântica, apresentando diversas espécies frutíferas, as quais produzem frutos do tipo baga e com aromas característicos e potencial tecnológico a ser difundido (LATTUADA; SOUZA; GONZATTO, 2010; STEFANELLO; PASCOAL; SALVADOR, 2011). Várias espécies do gênero *Eugenia* são conhecidas por conterem concentrações apreciáveis de polifenóis, elagitaninos e flavonoides, apresentando funções antimicrobianas, antioxidantes, antidiabética e anti-inflamatória (HUSSEIN et. al., 2003; MAGINA; DALMARCO; DALMARCO, 2012).

Pesquisas abordando compostos bioativos têm crescido nos últimos anos, devido a preocupação dos consumidores na ingestão de alimentos associados aos benefícios destes compostos a saúde. Além disso, o estudo das propriedades bioativas presentes em frutas nativas fortalece a venda nos mercados, atingindo a demanda dos consumidores por novos produtos que promovem saúde e prevenção de doenças (PAZ et al., 2015).

Os compostos fenólicos naturalmente presentes em frutas, representam importante grupo de compostos com características bioativas com perfil e concentração variados dependendo do tipo de planta, fatores genéticos e condições ambientais (GARMUS et. al., 2014). Estes compostos abrangem moléculas simples e complexas com alto grau de polimerização, presentes em sua forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).

A classificação dos compostos fenólicos é dada de acordo com sua estrutura química a qual apresenta um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila e representados principalmente por ácidos fenólicos, estilbenos, flavonoides, lignanas e taninos, divididos em hidroxibenzóicos e ácidos hidroxicinâmicos, os quais apresentam caráter ácido devido à presença do grupo carboxílico na molécula. Os ácidos gálico, vanílico, elágico e sirínico são os mais comuns da classe dos

hidroxibenzoicos encontrados em frutas. Ácidos ferrúlico, p-cumárico e caféico, são exemplos de ácidos hidroxinâmicos mais frequentes nas frutas (CHITARRA; CHITARRA, 2005; HAMINIUK et al., 2012). Os taninos apresentam uma ampla diversidade de estrutura e são classificados em condensados e hidrolisáveis, sendo responsáveis por conferirem adstringência em frutas, além de possuírem habilidade de precipitar proteínas (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010; HAMINIUK et al., 2012; VERMERRIS; NICHOLSON, 2008).

As antocianinas, pertencente ao grupo dos flavonoides, são apontadas como um dos grupos de pigmentos de maior distribuição nos vegetais, sendo sintetizadas e acumuladas ou excretadas a partir de células vivas (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010). Suas cores intensas desempenham papel importante nos mecanismos reprodutores das plantas, tais como a polinização e a dispersão de sementes (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Poucos estudos descrevem a composição química, nutricional e bioativa de frutos da *Eugenia brasiliensis* Lamarck (ABE; LAJOLO; GENOVESE, 2012; DA SILVA et al., 2014, TEIXEIRA et al., 2015). Até o presente o momento não foi reportado estudo destes compostos durante os estádios de maturação. Considerando a escassez de informações, neste estudo buscamos acompanhar os compostos fenólicos bem como a capacidade antioxidante e redutora dos frutos da grumixameira (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) provenientes de diferentes regiões do Estado de Santa Catarina a fim de correlacionar os compostos bioativos em diferentes estádios de maturação e local de cultivo.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico. Para as análises foram utilizados reagente de Folin Ciocalteu, carbonato de sódio, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcomano-2-carboxílico (Trolox[®]), metanol, acetato de sódio, ácido cítrico, ácido clorídrico, 2,4,6-tri(2-piridil)-3-triazina (TPTZ), os padrões de fenólicos (ácido 4-aminobenzoico, ácido salicílico, ácido cinâmico, ácido p-anísico, ácido mandélico, vanilina, ácido 4-hidroximetilbenzoico, ácido 3,4 dihidroxibenzoico, umbeliferona, ácido 4-hidroxicinâmico, ácido metoxifenilacético, ácido vanílico, ácido 4-metilumbeliferona, coniferaldeído, ácido cafeico, siringaldeído,

escopoletina, ácido gálico, protocatecuico, vanílico, p-cumárico, resveratrol, campferol, aromadendrina, hispidulina, quercetina, taxifolina, miricetrina, rutina, ácido ferrúlico, ácido sirínico, sinapaldeído, ácido sinápico, crisina, pinocembrina, apigenina, galangina, naringenina, eriodictiol, fustina, catequina, epicatequina, ácido elágico, carnosol, ácido clorogênico, ácido rosmarínico, isoquercetina, naringina) adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA). Ácido ascórbico, ácido gálico, cloreto férrico anidro, cloreto de potássio e acetona, obtidos da Vetec (Rio de Janeiro, Brasil). O etanol utilizado foi obtido da F. Maia Indústria e Comércio Ltda (São Paulo, Brasil) e água desionizada obtida através de desionizador MilliQ (Millipore, Bedford, E.U.A.).

2.2 Amostragem

As amostras dos frutos de grumixama foram coletadas nos municípios de Florianópolis (latitude 27° 35' 48", longitude 48° 32' 57") – região A e São Ludgero (latitude 28° 19' 33", longitude 49° 10' 36") – região B, Santa Catarina, Brasil, durante os meses de novembro e dezembro de 2014, em árvores sadias, apresentando frutos em diferentes estádios de maturação. Massas de 100 g de frutos sadios foram coletados para cada estágio, totalizando 3 estádios de maturação (inicial, intermediário e totalmente maduro). Os frutos coletados foram transportados ao Laboratório de Química de Alimentos da UFSC em caixas isotérmicas refrigeradas. No laboratório foram higienizados com água potável, seguidos de lavagem com água desionizada, drenados e dispostos em embalagens de polietileno, tendo atmosfera modificada com nitrogênio gasoso, seladas hermeticamente e mantidas à $-18 \pm 2^{\circ}\text{C}$ em freezer (Consul, modelo CV1U66BNA, Santa Catarina, Brasil) até o momento das análises. No momento das análises as amostras ainda congeladas foram despulpadas (epicarpo e mesocarpo) manualmente e trituradas em moinho de bancada (IKA modelo A49, São Paulo, Brasil), para posteriormente serem analisadas imediatamente de acordo com os métodos propostos a seguir.

2.3 Preparo dos extratos

Os extratos para as análises de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante e redutora foram produzidos a partir de massas de 5g das polpas (epicarpo e mesocarpo) trituradas e medidas em balança analítica (Metler Toledo, modelo AB 204-SRS, Schweiz,

Suiça), acondicionadas em tubos de polipropileno tipo falcon com capacidade de 50 mL, adicionados de 25 mL da mistura de solventes: acetona/água (80:20, v/v). A extração foi realizada por agitação magnética a 1800 rpm (Fisatom, modelo 725A, São Paulo, Brasil) durante 60 minutos em temperatura ambiente e ao abrigo da luz. Posteriormente os extratos foram centrifugados a 2000 g por 10 minutos em centrífuga (Fanem, modelo 280 R, São Paulo, Brasil) e os sobrenadantes reservados para as análises conforme os itens 2.4 e 2.7.

2.4 Determinação de compostos fenólicos totais (FT)

Os FT foram quantificados através do método colorimétrico Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965), onde séries de balões volumétricos de 10 mL, foram adicionados de 2,5 mL de água desionizada, 100 µL de alíquota do extrato e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu, homogeneizados e seguidos da adição de 1,5 mL de solução de carbonato de sódio (20% m/v), e o volume ajustado para 10 mL com água desionizada, submetido novamente a homogeneização e mantido ao abrigo da luz a 25°C por 120 minutos. As leituras das absorbâncias correspondentes foram realizadas à 765 nm em espectrofotômetro UV-Vis (modelo Spectro Vision SB 1810-S, Beijing, China). Uma curva padrão de ácido gálico (50 – 500 mg L⁻¹) foi construída paralelamente e os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g⁻¹ de amostra *in natura*.

2.5 Determinação de antocianinas monoméricas totais (AMT)

Para a quantificação das AMT as amostras foram extraídas através do processo de extração exaustiva por maceração, para o qual massas de 5 g das amostras *in natura* medidas em triplicata, foram adicionadas de 25 mL de etanol 1,5 M HCl em frasco âmbar, mantidas em frascos âmbar 5 ± 2 °C durante 24 h com agitação ocasional. Após este período, os extratos foram centrifugados a 2000 g por 10 minutos. A concentração de AMT foi determinada no sobrenadante pelo método espectrofotométrico de diferença de pH, descrito por Giusti e Wrolstad (2001) com auxílio de espectrofotômetro (modelo Spectro Vision SB 1810-S, Beijing, China) nos comprimentos de onda 515 nm e 700 nm. Os resultados foram obtidos através da seguinte equação:

$$AMT = A \times PM \times 1000 / (\epsilon \times C) \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo: A = absorvância ($A_{515} - A_{700}$) pH 1,0 - ($A_{515} - A_{700}$) pH 4,5; PM = peso molecular de cianidina-3-glicosídeo = 490; ϵ = absorvidade molar de cianidina 3-glicosídeo = 26900, e C= a concentração do extrato no tampão expresso em mg mL^{-1} .

2.6 Quantificação de taninos condensados (TC)

Os teores de taninos condensados das amostras foram avaliados através do método proposto por Price, Vanscoyoc e Butter (1978) adaptado por Villareal-Lozoya, Lombardini e Cisneros-Zevallos (2007). As extrações foram realizadas em triplicata com massas homogêneas de 1g das amostras, adicionadas de 10 mL de metanol contendo 1% de HCl, acondicionadas em tubos de polietileno tipo falcon com capacidade de 15 mL, em banho ultrassom (Unique, modelo USC-1400, São Paulo, Brasil) a 30°C por 20 minutos, centrifugados em centrífuga (Fanem, modelo 280 R, São Paulo, Brasil) a 3000 g por 5 minutos e os sobrenadantes reservados para a quantificação de TC, conforme segue: 5 mL do reagente de vanilina (0,5g de vanilina em 200 mL de HCl 4% em metanol), transferido para um tubo de polietileno tipo falcon e adicionado de 1 mL do sobrenadante, em triplicata. Simultaneamente, provas em branco foram realizadas com 5 mL do reagente de vanilina e 1 mL do solvente extrator. Os tubos permaneceram em repouso a temperatura ambiente por 20 minutos em seguida as absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro (modelo Spectro Vision SB 1810-S, Beijing, China) à 500 nm. Os valores foram calculados por interpolação das absorvâncias das amostras com a curva padrão de catequina (50 – 500 mg L^{-1}) e expressos em mg equivalentes a catequina por 100 g^{-1} das amostras *in natura*.

2.7 Capacidade antioxidante *in vitro*

2.7.1 Método de DPPH

A capacidade antioxidante (CA) das amostras de grumixama foram determinadas de acordo com o método descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), com modificações de Kim et al. (2002). O radical DPPH foi dissolvido em metanol puro para uma concentração de 0,1 mM. Essa solução foi dissolvida em 1:100 com metanol 80% (v/v) e sua absorvância inicial em 515 nm ajustada para aproximadamente 0,800. As alíquotas de 2,9 mL de solução DPPH (A_0) foram medidas em espectrofotômetro (modelo Spectro Vision SB 1810-

S, Beijing, China) e adicionada de alíquotas de 100 µL dos extratos e homogeneizados. A mistura foi incubada a temperatura ambiente ao abrigo da luz por 30 min, seguida de nova medida da absorbância (A_{30}). Um teste branco com 2,9 mL DPPH e 100 µL do solvente foi conduzido paralelamente. O poder de seqüestro de radicais é calculado pela fórmula: $\% = [1 - (A_{30} - B)/A_0] \times 100$, onde uma curva padrão preparada com ácido ascórbico (0-100 mg L⁻¹) foi utilizada como referência. Os resultados foram expressos em mg equivalentes a ácido ascórbico (mg EAA) por 100 g⁻¹ de amostra *in natura*.

2.7.2 Método FRAP

A avaliação do potencial redutor de ferro (FRAP) dos extratos de grumixama foi determinada de acordo com o método descrito por Benzie e Strain (1996), com modificações de Arnous, Makris e Kelafas (2002).

Um volume de 0,2 mL de solução de cloreto férrico 3 mM foi adicionado a um tubo de polietileno tipo falcon de 10 mL, seguido da adição de alíquotas de 0,2 mL do extrato, homogeneizado em vortex (Fisatom, modelo 772, São Paulo, Brasil). As soluções foram acondicionadas em banho de água (Fisatom, modelo 550, São Paulo, Brasil) à $37 \pm 2^\circ\text{C}$ por 30 minutos. Após o tempo, os tubos foram adicionados de 3,6 mL de solução de TPTZ (2,4,6-tripiridyl-s-triazina), homogeneizados e mantidos em repouso a temperatura ambiente por 10 minutos. As leituras das absorbâncias foram realizadas em espectrofotômetro (modelo Spectro Vision SB 1810-S, Beijing, China) no comprimento de onda 620 nm. Os valores de potencial de redução foram calculados através da interpolação da absorbância final em curva padrão de ácido ascórbico (40 – 1050 µmol ácido ascórbico L⁻¹), equivalentes a Trolox (25 – 500 µmol Trolox L⁻¹) e em equivalentes a sulfato ferroso heptahidratado (Fe₂SO₄.7H₂O) (25 – 1000 µmol Fe₂SO₄.7H₂O). Os resultados da capacidade foram expressos em µmol equivalentes a ácido ascórbico (EAA), µmol equivalentes a Trolox (TEAC) e µmol equivalentes a Fe (II) por 100 g⁻¹ da amostra *in natura*.

2.8 Perfil dos compostos fenólicos livres e conjugados

Para determinação do perfil dos compostos fenólicos livres, massas de 10 g de frutos (epicarpo e mesocarpo), foram trituradas em processador doméstico (Britânia, modelo Black Plus, Paraná, Brasil) com 100 mL de água desionizada. Uma alíquota de 10 mL foi

transferida para um tubo de polietileno tipo falcon de 50 mL e acidificada (pH 2,0) com 200 μ L de HCl (1M). Posteriormente, submetida a extração líquido-líquido através da adição de 5 mL de acetato de etila e sob agitação por 1 min. Após extração, o sistema foi centrifugado a 4000 g (Fanem, modelo 280 R, São Paulo, Brasil) por 5 minutos. O resíduo extraído por mais duas vezes seguindo o mesmo procedimento. Os extratos combinados foram adicionados de Na₂SO₄, para remoção da água residual e filtrados em papel *Whatman* n°1 e rotaevaporados até *secura* (Fisatom, modelo 802, São Paulo, Brasil). O extrato residual foi suspenso em metanol e seu volume aferido para 1 mL, transferidos para eppendorf e centrifugados durante 4 minutos a 14000 g (Eppendorf, modelo 22331, Hamburgo, Alemanha). As amostras foram diluídas com água desionizada (3:10, v/v) para injeção em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Agilent Technologies, modelo 1200 series, Alemanha) acoplado a espectrômetro de massas com analisador triploquadrupolo e ion trap linear (modelo Q Trap 3200, Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá) utilizando fonte de ionização por eletrospray TurboIonSpray (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá) (HPLC-ESI-MS/MS) aplicando o método segundo Schulz et al. (2015).

Para determinação dos compostos fenólicos conjugados, massas de 10g de frutos (epicarpo e mesocarpo), foram triturados utilizando um processador doméstico (Britânia, modelo Black Plus, Paraná, Brasil) com 100 mL de água desionizada. Alíquotas de 9 mL, foram transferidas para tubos de polietileno tipo falcon de 50 mL, adicionados de 20 mg de ácido ascórbico, acidificadas pela adição de 5 mL de solução de HCl 6M e adicionado lentamente em atmosfera de N₂. Os frascos fechados foram incubados a 85 ± 2 °C em estufa (SP Labor SP-400/1, São Paulo, Brasil) por 30 min, com intervalos de agitação de 10 min. Após incubação, os tubos foram retirados, arrefecidos e submetidos ao mesmo processo de extração realizado para os extratos de fenólicos livres, rotaevaporados, ressuspensos em metanol puro e transferidos para eppendorf. Os extratos foram diluídos com água desionizada (3:10, v/v) e injetados em cromatógrafo líquido de alta eficiência (modelo 1200 series, Agilent Technologies, Alemanha) acoplado a espectrômetro de massas com analisador triploquadrupolo e ion trap linear (modelo Q Trap 3200, Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá) utilizando fonte de ionização por eletrospray TurboIonSpray (Applied Biosystems/MDS Sciex, Canadá) (HPLC-ESI-MS/MS) aplicando o método segundo Schulz et al. (2015).

A identificação dos compostos fenólicos foi realizada com base no tempo de retenção, íon precursor e seus fragmentos através da comparação com os respectivos padrões disponíveis comercialmente, sendo testados 45 compostos. A otimização dos parâmetros do espectrômetro de massas foi realizada por infusão direta de soluções contendo cada composto de interesse individualmente.

2.9 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata de extração e quantificação e para identificar diferenças significativas entre as médias foram utilizadas as análises de variância (ANOVA) e o teste de Tukey. Todas as análises foram realizadas através do software STATISTICA 7.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, EUA). Diferenças entre as médias ao nível de 5% ($p < 0.05$) foram consideradas significativas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Compostos fenólicos

Os resultados do conteúdo de fenólicos totais (FT), antocianinas monoméricas totais (AMT) e taninos condensados (TC) dos frutos grumixama em diferentes estádios de maturação e regiões de coleta estão apresentados na Tabela 4.1.

As concentrações de FT durante a maturação dos frutos, na região A oscilou de 338,22 a 468,74 mg EAG 100 g⁻¹ e na região B oscilou de 268,51 a 469,18 mg EAG 100 g⁻¹ do estágio inicial para o mais avançado, apresentando o estágio 2 da região A e B, 468,74 mg EAG 100 g⁻¹ e 469,18 mg EAG 100g⁻¹, respectivamente, valores estes sem diferença estatística significativa. Estudos realizados no decorrer da maturação com frutos de jambolão (BRANDÃO et al., 2011), morango (ORNELAS-PAZ et al., 2013), jabuticaba (ABE; LAJOLO, GENOVESE, 2012) e pêssgo (LIU; CAO; JIANG, 2015) apresentaram maior conteúdo de FT no estágio inicial (frutos verdes) e reduziram no decorrer da maturação dos frutos, comportamento este não encontrado para os frutos grumixama, considerando que não foram analisados frutos no estágio inicial (frutos verdes).

Tabela 4.1 – Conteúdo de fenólicos totais, antocianinas monoméricas totais e taninos condensados em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) em diferentes estádios de maturação

Região A			
Estádios	FT*	AMT**	TC***
1	345,77 ± 11,59 ^b	173,48 ± 4,06 ^c	74,61 ± 14,74 ^c
2	468,74 ± 10,25 ^a	416,94 ± 3,72 ^b	171,34 ± 8,29 ^b
3	338,22 ± 6,09 ^b	518,64 ± 20,26 ^a	420,70 ± 41,52 ^a
Região B			
Estádios	FT*	AMT**	TC***
1	268,51 ± 9,87 ^c	135,45 ± 4,02 ^b	162,73 ± 0,00 ^b
2	469,18 ± 24,22 ^a	317,59 ± 4,53 ^a	146,05 ± 7,35 ^b
3	424,00 ± 13,91 ^b	325,28 ± 6,69 ^a	230,40 ± 7,39 ^a

Resultados expressos em amostras *in natura* como média ± DP de três repetições. ^{a-c} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os estádios de maturação para cada região (p < 0.05) pelo Teste de Tukey.

* Valores expressos em mge equivalentes a ácido gálico (EAG)100 g⁻¹.

** Valores expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo 100 g⁻¹.

*** Valores expressos em mg equivalentes a catequina (EC).

Fonte: próprio autor.

Os valores de FT encontrados para as amostras na região A apresentaram diferença estatística significativa nos estádios de maturação 1 e 2 e entre os estádios 2 e 3. Este comportamento não foi observado na região B, sendo que nesta região os valores apresentaram diferença estatística significativa entre os três estádios estudados. No decorrer da maturação nas duas regiões de coleta, o conteúdo de FT aumentou do estádio 1 para 2 e reduziu do estádio 2 para 3. Comparando os maiores valores do estádio 2 das duas regiões de coleta, com os dados publicados por Teixeira e colaboradores (2015) com frutos provenientes do Vale do Paraíba (SP) e Itajaí (SC), os resultados encontrados são superiores em relação a frutos da região de São Paulo (180,00 mg EAG 100 g⁻¹) e inferiores aos frutos da região Itajaí, Santa Catarina (750,00 mg EAG 100 g⁻¹).

Os maiores valores de FT encontrados nos frutos de grumixama são superiores aos encontrados em frutos de ameixa (76,90 mg EAG 100 g⁻¹) (GIL et al., 2002), jabolão (185,00 mg EAG 100 g⁻¹), (RUFINO et al., 2010) e semelhantes para mirtilo (412 mg EAG 100 g⁻¹).

¹); cranberry (315,00 mg EAG 100 g⁻¹) (ZHENG; WANG, 2003) pitanga (433,84 mg EAG 100 g⁻¹) (DERNARDIN et al., 2015) e jabuticaba (440,00 mg EAG 100 g⁻¹) (RUFINO et al., 2010).

Durante a maturação dos frutos, ocorre uma série de alterações, tais como variação de cor, textura e sabor, indicando que mudanças na composição estão ocorrendo (BASHIR; BAKR; GOUKH, 2003). O acúmulo de compostos fenólicos está fortemente relacionado com o estado fisiológico do fruto, sendo o resultado do equilíbrio entre a biossíntese e o metabolismo destes compostos (BRANDÃO et al., 2011).

O decréscimo no conteúdo dos compostos fenólicos durante a maturação dos frutos tem sido atribuído à oxidação dos polifenóis pela polifenoloxidase e interrupção da biossíntese dos polifenóis (FAWOLE; OPARA, 2013).

Em relação ao conteúdo de antocianinas monoméricas totais (AMT), os resultados foram distintos no decorrer da maturação nas duas regiões de coleta (Tabela 4.1). O maior conteúdo de AMT da região A foi observado no estágio 3, o qual apresentou 518,64 mg de cianidina-3-glicosídeo 100 g⁻¹ e na região B, o estágio 2 e 3 apresentaram os maiores conteúdos de AMT, 317,59 mg de cianidina-3-glicosídeo 100 g⁻¹ e 325,28 mg de cianidina-3-glicosídeo 100 g⁻¹, respectivamente, não apresentando diferença significativa entre esses estádios.

Na região A, o conteúdo de AMT foi crescente no decorrer da maturação, sendo este comportamento também observado para cereja (MOZETIC et al., 2004; SERRANO et al., 2005), romã (SHWARTZ et al., 2009) e jabuticaba (ALEZANDRO et al., 2013). Já na região B, o conteúdo de AMT foi crescente do estágio 1 para 2, porém do estágio 2 para 3 não apresentou diferença significativa.

Os maiores valores do conteúdo de AMT dos frutos grumixama foram similares aos encontrados por Haminiuk et al. (2011), o qual apresentou 266,66 mg 100 g⁻¹. O conteúdo de AMT foram superiores aos encontrados aos frutos jambolão (93,3 mg 100 g⁻¹) (RUFINO et al., 2010), jabuticaba (342,23 mg 100 g⁻¹) (HAMINIUK et al., 2011) e amora (152,2 mg 100 g⁻¹) (PANTEDILIS et al., 2007).

As antocianinas são sintetizadas no decorrer da maturação, com maior predominância no epicarpo dos frutos. A coloração azul, vermelha, púrpura ou laranja estão relacionadas a estrutura fenilpropanoide, da presença de grupos hidroxílicos (-OH), metoxílicos (-OCH₃), açúcares, açúcares acetilados, os quais atuam na intensidade e estabilidade da cor (CHITARRA; CHITARRA, 2005; GOULD; DAVIES; WINEFIELD, 2009).

Para os taninos condensados (TC), o maior conteúdo de TC foi encontrado no estágio 3 na região A e B. O conteúdo de TC na região A oscilou de 74,61 mg EC 100 g⁻¹ a 420,70 mg EC 100 g⁻¹ e na região B variou de 146,05 mg EC 100 g⁻¹ a 230,40 mg EC 100 g⁻¹. No decorrer da maturação o teor de TC mostrou-se crescente na região A, apresentando diferença significativa entre os estádios de maturação e na região B, o conteúdo de TC teve aumento no decorrer da maturação, não apresentando diferença significativa do estágio 1 para 2.

Os maiores valores de TC dos frutos grumixama do estágio 3, foram superiores aos encontrados em gabioba (116,00 mg EC 100 g⁻¹), pitanga (291,00 mg EC 100 g⁻¹), (ROCHA et al., 2011); cereja (163,40 mg EC 100 g⁻¹), ameixa (20,42 mg EC. 100 g⁻¹) (ÇEVİK; KIZILKAYA; TÜRKER, 2012) e amora (165,86 mg EC 100 g⁻¹) (TÜRKER et al., 2012).

Durante a maturação dos frutos, observa-se um aumento gradual na condensação dos taninos (KOBELITZ, 2008). Isto ocorre, porque as estruturas altamente condensadas são menos solúveis, devidos as ligações estarem correlacionadas fortemente a outros componentes celulares. O conteúdo de taninos condensados está distribuído em relação à localização dentro do fruto, estando em maior concentração na casca e menor concentração na polpa (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Em frutos amora analisados em 5 estádios de maturação, o maior teor de taninos condensados foi encontrado nos estádios iniciais da maturação (frutos verdes), e diminuiu de forma intensa no decorrer da maturação dos frutos (CHEN et al., 2012). Em mirtilos com 5 estádios de maturação o maior teor de TC foi encontrado nos 3 primeiros estádios (frutos verdes) (JAAKOLA et al., 2002). Os trabalhos citados anteriormente foram realizados com frutos ainda verdes e o fato de a primeira coleta no presente estudo ter sido realizada em estágio inicial de maturação (frutos vermelhos), pode explicar as diferenças encontradas para o conteúdo de taninos condensados.

3.2 Capacidade antioxidante pelo método DPPH e FRAP

Os resultados da capacidade antioxidante pelo método DPPH e FRAP em diferentes estádios de maturação e regiões de cultivo estão apresentados na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Capacidade antioxidante em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) em diferentes estádios de maturação

Região A				
Estádios	DPPH*	FRAP**	FRAP***	FRAP****
1	436,42 ± 2,64 ^b	1276,05 ± 20,33 ^b	949,35 ± 29,82 ^b	2701,91 ± 41,75 ^b
2	488,48 ± 6,34 ^a	1140,65 ± 38,76 ^c	795,17 ± 23,24 ^c	2484,52 ± 32,53 ^c
3	415,09 ± 2,33 ^c	1716,46 ± 26,09 ^a	1390,07 ± 13,61 ^a	3487,74 ± 19,05 ^a
Região B				
Estádios	DPPH*	FRAP**	FRAP***	FRAP****
1	343,15 ± 1,18 ^c	766,58 ± 26,91 ^c	342,73 ± 16,13 ^c	1885,63 ± 62,02 ^c
2	415,58 ± 3,32 ^b	1047,94 ± 22,65 ^b	689,38 ± 25,88 ^b	2335,98 ± 36,23 ^b
3	507,28 ± 4,66 ^a	1174,99 ± 11,91 ^a	834,68 ± 30,76 ^a	2539,12 ± 43,06 ^a

Resultados expressos em amostras *in natura* como média ± DP de três repetições. ^{a-c} Letras sobrescritas diferentes na mesma coluna representam diferença estatística entre os estádios de maturação para cada região (p< 0.05) pelo Teste de Tukey.

* Valores expressos em mg equivalente a ácido ascórbico (EAA) 100 g⁻¹.

** Valores expressos em µmol equivalente a ácido ascórbico (EAA) 100 g⁻¹.

*** Valores expressos em µmol equivalente a Trolox (TEAC).

**** Valores expressos em µmol µmol equivalente a Fe (II) 100 g⁻¹.

Fonte: próprio autor

Os valores encontrados da capacidade antioxidante pelo método DPPH, indicaram maior capacidade antioxidante no estágio 2 da região A (488,48 mg EAA 100g⁻¹) e no estágio 3 da região B (507,28 mg EAA 100g⁻¹). A capacidade antioxidante dos frutos na região A oscilou entre 415,09 mg EAA 100 g⁻¹ a 488,48 mg EAA 100 g⁻¹ e na região B oscilou entre 343,15 a 507,28 mg EAA 100 g⁻¹. Os valores encontrados nas duas regiões de cultivo apresentaram diferença estatística entre os estádios de maturação.

Pelo método DPPH durante a maturação dos frutos, na região A houve um aumento na capacidade antioxidante do estágio 1 para 2 e uma redução da capacidade antioxidante do estágio 1 para 3. Este comportamento não foi encontrado na região B, onde a capacidade antioxidante mostrou-se crescente no decorrer da maturação dos frutos.

Os maiores valores de CA dos frutos grumixama pelo método DPPH, são superiores aos encontrados em ameixa (51,80 mg EAA 100 g⁻¹) (GIL et al., 2002) e cereja (17,2 mg EAA 100 g⁻¹) (USENIK; FABCIC; STAMPAR, 2008).

Em relação ao método FRAP, a capacidade antioxidante não apresentou o mesmo comportamento observado no método de captura do radical DPPH. Pelo método FRAP, o estágio 3 na região A e B, foram encontrados os maiores valores de capacidade antioxidante. A capacidade antioxidante dos frutos na região A oscilou entre 1140,65 µmol EAA.100 g⁻¹ a 1716,46 µmol EAA 100 g⁻¹ e na região B oscilou entre 766,58 µmol EAA 100 g⁻¹ a 1174,99 µmol EAA.100 g⁻¹.

Pelo método FRAP durante a maturação dos frutos, na região A houve uma redução na capacidade antioxidante do estágio 1 para 2 e um aumento na capacidade antioxidante do estágio 2 para 3. Este comportamento não foi encontrado na região B, onde a capacidade antioxidante mostrou-se crescente no decorrer da maturação dos frutos, comportamento também encontrado para juçara (SCHULZ et al., 2015), açai (GORDON et al., 2012) e amora (LOU et al., 2012).

Os maiores valores de CA dos frutos grumixama pelo método FRAP foram superiores aos encontrados em frutos de acerola (1480 µmol equivalente a Fe (II) 100 g⁻¹), uvaia (3840 equivalente a µmol Fe (II).100 g⁻¹) (RUFINO et al., 2010), araçá (1140 µmol TEAC.100 g⁻¹), (CONTRERAS-CALDERÓN et al., 2011) e pitanga (2343 µmol TEAC.100 g⁻¹) (DENARDIN et al., 2015).

As diferenças encontradas para a capacidade antioxidante nos frutos grumixama podem estar relacionadas aos métodos aplicados, pois os mesmos possuem mecanismos distintos, o primeiro mede a capacidade antioxidante da captura do radical livre DPPH enquanto o

segundo mede a capacidade antioxidante de redução do metal. Estas diferenças estão relacionadas devido a capacidade antioxidante dos compostos bioativos de origem vegetal, ser dependente da sua estrutura e concentração. A concentração destes compostos é influenciada por fatores como cultivar, estágio de maturação, local de cultivo, condições do solo, clima e práticas agrícolas (BALASUNDRAM; SUNDAM; SAMMAN, 2006; OLIVEIRA et al., 2009; ISABELLE et al., 2010; MELO et al., 2008).

3.3 Perfil dos compostos fenólicos livres e conjugados

A Tabela 4.3 apresenta os parâmetros do espectrômetro de massas obtidos pela infusão dos padrões de compostos fenólicos.

Tabela 4.3 - Parâmetros do espectrômetro de massas obtidos para os compostos fenólicos testados

	DP	EP	CEP	CE	CXP
4-aminobenzóico	-20,00	-9,50	-10,00	-16,00	-2,00
Ácido salicílico	-25,00	-2,50	-10,00	-24,00	-2,00
Ácido cinâmico	-25,00	-9,00	-10,00	-16,00	-2,00
Ácido gálico	-25,00	-11,00	-12,00	-20,00	-4,00
Protocatecuico	-26,00	-9,00	-17,32	-17,00	-4,00
Ácido p-cumárico	-21,00	-4,00	-17,69	-13,00	-6,00
Taxifolina	-95,00	-10,50	-16,00	-30,00	-2,00
Rutina	-31,00	-5,00	-34,19	-27,00	-6,00
Quercetina	-80,00	-6,00	-14,00	-32,00	0,00
Resveratrol	-50,00	-8,50	-18,00	-24,00	-4,00
Miricetina	-65,00	-4,50	-18,00	-34,00	-2,00
Aromadendrina	-45,00	-4,00	-16,00	-32,00	-2,00
Hispidulina	-50,00	-7,00	-22,00	-14,00	-4,00
Campferol	-75,00	-4,50	-16,00	-62,00	-2,00
Ácido p-anísico	-25,00	-5,00	-10,00	-18,00	-2,00
Ácido mandélico	-20,00	-7,50	-10,00	-12,00	-2,00
Vanilina	-25,00	-3,00	-14,00	-14,00	-2,00
Ácido 4 –	-30,00	-6,50	-10,00	-18,00	-2,00
hidroximetilbenzoico					
Ácido 3,4	-30,00	-7,00	-10,00	-20,00	-2,00
hidroximetilbenzoico					
Umbeliferona	-55,00	-4,50	-10,00	-22,00	-4,00
4-hidroxicinâmico	-25,00	-10,50	-12,00	-20,00	-2,00
Ácido	-10,00	-10,00	-10,00	-6,00	-2,00

metoxifenilacético					
Ácido vanílico	-30,00	-7,00	-10,00	-18,00	-2,00
4-metilumbeliferona	-45,00	-10,50	-10,00	-28,00	-2,00
Coniferaldeído	-25,00	-10,00	-12,00	-20,00	-2,00
Ácido cafeico	-30,00	-11,00	-10,00	-22,00	-2,00
Siringaldeído	-25,00	-4,50	-10,00	-20,00	-4,00
Escopoletina	-35,00	-4,00	-12,00	-14,00	-2,00
Ácido ferúlico	-40,00	-7,00	-10,00	-24,00	-2,00
Ácido siríngico	-30,00	-10,50	-12,00	-28,00	-2,00
Sinalpadeído	-30,00	-3,00	-12,00	-22,00	-2,00
Ácido sinápico	-30,00	-12,00	-16,00	-22,00	0,00
Crisina	-65,00	-10,00	-20,00	-52,00	-2,00
Pinocembrina	-60,00	-12,00	-22,00	-54,00	-2,00
Apigenina	-75,00	-9,00	-14,00	-46,00	-2,00
Galangina	-75,00	-8,50	-16,00	-64,00	-10,00
Naringenina	-60,00	-4,50	-12,00	-28,00	-2,00
Carnosol	-75,00	-5,00	-16,00	-16,00	-4,00
Ácido clorogênico	-25,00	-5,00	-24,00	-28,00	-2,00
Ácido rosmarínico	-50,00	-3,00	-18,00	-28,00	-4,00
Isoquercetina	-245,00	-3,00	-48,00	-44,00	-2,00
Naringina	-250,00	-4,00	-36,00	-52,00	-2,00
Eriodictiol	-75,00	-9,50	-16,00	-36,00	-4,00
Fustina	-45,00	-4,00	-14,00	-38,00	-2,00
Catequina	-55,00	-4,50	-14,00	-34,00	-4,00
Epicatequina	-290,00	-4,00	-16,00	-40,00	-2,00
Ácido elágico	-50,00	-10,50	-16,00	-58,00	0,00

DP - Potencial de desagregação; EP – Potencial de entrada; CEP – Potencial de entrada da célula de colisão; CE – Energia de colisão; CXP - Potencial de saída da célula de colisão.

Fonte: próprio autor.

A partir dos dados obtidos nos espectros de massas e tempos de retenção dos padrões listados na Tabela 4.4 e das amostras, foi possível identificar 19 compostos fenólicos presentes nas amostras dos frutos grumixama, sendo 9 da classe dos ácidos fenólicos (vanilina, protocatecuico, p-cumárico, vanílico, gálico, cafeico, ferrúlico, siríngico e rosmarínico) 9 da classe dos flavonoides (aromadendrina, caempferol, catequina, epicatequina, hispidulina, quercetina, isoquercetina, taxifolina e miricetrina) e uma cumarina (umbeliferona) (Tabela 10).

Tabela 4.4 – Íon precursor, íon quantitativo e tempo de retenção dos compostos fenólicos e limite de detecção (LOD) identificados durante a maturação dos frutos grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck)

Composto	Íon precursor (m/z) Q1	Íon precursor (m/z) Q3	Tempo de retenção (minutos)	LOD (mg L ⁻¹)
Vanilina	150,892	132,800	10,42	0,007
Protocatecuico	153,019	109,900	6,95	0,012
Umbeliferona	160,802	133,100	10,78	0,001
p-cumárico	163,040	119,100	10,46	0,001
Ácido vanílico	166,831	152,000	9,65	0,008
Ácido gálico	168,836	125,000	3,98	0,012
Ácido cafeico	178,834	135,000	9,45	0,006
Ácido ferrúlico	192,856	134,000	10,73	0,004
Ácido siríngico	196,862	182,000	10,01	0,007
Caempferol	284,808	93,000	12,34	0,125
Aromadendrina	286,824	125,000	11,29	0,001
Catequina	288,853	109,000	8,72	0,003
Epicatequina	288,948	109,000	9,33	0,006
Hispidulina	298,825	284,000	12,72	0,001
Quercetina	301,010	151,000	10,84	0,013
Taxifolina	302,815	285,000	10,70	0,003
Miricetina	316,875	151,000	11,24	0,033
Ácido rosmarínico	358,995	161,000	10,83	0,002
Isoquercetina	462,901	300,000	10,83	0,003

Fonte: próprio autor

Os frutos estudados apresentaram um maior número de compostos da classe de ácidos fenólicos e flavonoides (Tabela 10), sendo já reportados a quercetina por Reynertson et al. (2008) e Da Silva et al. (2014) e seus derivados em frutos roxos e amarelos por Teixeira et al. (2015). Os ácidos sinápico e gálico foram identificados por Da Silva et al. (2014). Epicatequina, miricetina e seus derivados foram reportados por Teixeira et al. (2015). A vanilina e os ácidos protocatecuico, p-cumárico, vanílico, cafeico, ferúlico, rosmarínico e siríngico ainda haviam sido descritos em frutos de grumixama até o presente momento, assim como os flavonoides, caempferol, aromadendrina, hispidulina, taxifolina e isoquercetina e cumarina (umbeliferona), sendo este o primeiro estudo a identificar a presença destes compostos.

O Quadro 4.1 apresenta os compostos fenólicos identificados nos frutos grumixama em diferentes estádios de maturação, em duas regiões de coleta.

Quadro 4.1 - Compostos fenólicos identificados em amostras (epicarpo e mesocarpo) de frutos de grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lamarck) em diferentes estádios de maturação e regiões de cultivo

Compostos	Região A						Região B					
	Estádio de maturação						Estádio de maturação					
	1		2		3		1		2		3	
	L	C	L	C	L	C	L	C	L	C	L	C
Vanilina												
Protocatecuico												
Umbeliferona												
Ácido p-cumárico												
Ácido vanílico												
Ácido gálico												
Ácido cafeico												
Ácido ferrúlico												
Ácido sirínico												
Caempferol												
Aromadendrina												
Catequina												
Epicatequina												
Hispidulina												
Quercetina												
Taxifolina												
Miricetrina												
Ácido rosmarínico												
Isoquercetina												

L – compostos livres

C – compostos conjugados

Fonte: próprio autor

O ácido p-cumárico e os flavonoides catequina, quercetina, taxifolina e isoquercetina foram detectados na forma livre e conjugada para todos os estádios de maturação nas duas regiões de coleta,

indicando que estes compostos presentes nos frutos grumixama não foram hidrolisados em sua totalidade no decorrer da maturação. Para epicatequina foi detectada na forma conjugada em todos os estádios nas duas regiões de coleta, sugerindo que estes compostos não sofrem alterações na maturação. Os demais compostos identificados apresentaram comportamentos distintos no decorrer da maturação nas duas regiões de coleta.

Estas variações encontradas podem ser explicadas pelo fato de que durante a maturação dos frutos, o desenvolvimento dos compostos fenólicos e interações com outros compostos tais como açúcares e ácidos orgânicos apresentam comportamentos distintos, podendo variar de acordo com a classe dos fenólicos (DE LA ROSA; ALVAREZ-PARRILLA; GONZÁLEZ-AGUILAR, 2010; KRUGER et al., 2011).

A maior parte dos compostos fenólicos encontrada na forma conjugada, em plantas superiores e os compostos de baixo peso molecular estão na forma de glicosídeos ou ésteres ligados a açúcares (BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN, 2006; IMEH; KHOKHAR, 2002).

Os ácidos fenólicos são geralmente encontrados na forma conjugada, sendo facilmente convertidos a ácidos fenólicos livres durante o processo de amadurecimento (NEO et al., 2010). Para os flavonoides, são encontrados como agliconas e quando ligados a uma ou mais moléculas de açúcar são conhecidos como glicosídeos destacando-se por representar o grupo em maior quantidade em frutas (HAMINIUK et al., 2012; KUMAR; PANDEI, 2013).

Estudos realizados em frutos vermelhos e roxos relataram a presença do ácido p-cumárico em cranberry (BORGES et al., 2010), mirtilo (SELLAPAN; AKOH; KREWER, 2002) e amora (MERTZ et al., 2007), catequina foi encontrada em mirtilo (HUANG et al., 2012), amora (SELLAPAN; AKOH; KREWER, 2002) e morango (SEERAM et al., 2006), quercetina em mirtilo, framboesa, groselhas vermelhas, cranberry (BORGES et al., 2010), amora (MERTZ et al., 2007), jambolão e jabuticaba (REYNERTSON et al., 2008), taxifolina em juçara (SCHULZ et al., 2015), açaí (GORDON et al., 2012) e amora (ZHANG et al., 2008) e isoquercetina em groselha vermelha, framboesa, mirtilo (BORGES et al., 2010), amora (MIKULIC-PETKOVSEK et al., 2012) e cereja (USENIK et al., 2015).

Estudos sobre o desenvolvimento de compostos fenólicos durante a maturação, observou em amostras de morango (AABY et al., 2012), nêspera (DING et al., 2011), açaí (GORDON et al., 2012), framboesa (STAVANG et al., 2015) e ameixa (USENIK et al., 2008)

apresentando oscilações para alguns fenólicos entre os estádios de maturação, o que vem de encontro aos resultados encontrados para os frutos grumixama.

O intenso interesse por compostos fenólicos presentes em frutas, como ácidos fenólicos, flavonoides, antocianinas e taninos, são frequentemente associados aos benefícios que proporcionam a saúde sendo relacionados principalmente ao potencial antioxidante que estes compostos apresentam (ANTOLOVICH et al., 2010; BALASUNDRAM; SUNDAM; SAMMAN, 2006; HAMINIUK et al., 2012).

4 CONCLUSÃO

As variações no conteúdo de fenólicos totais, taninos condensados, antocianinas monoméricas totais e capacidade antioxidante e redutora das amostras de frutos de grumixama, sugerem os estádios 2 e 3 como os que apresentaram as maiores concentrações de compostos e maior capacidade antioxidante. O perfil dos compostos fenólicos identificou a presença de 19 compostos, sendo o p-cumárico, catequina, quercetina, taxifolina e isoquercetina encontrados na forma livre e conjugada em todos os estádios de maturação nas duas regiões de coleta. Desta forma, os resultados destacam a presença de compostos com comprovado potencial bioativo nos frutos grumixama, fortalecendo a possibilidade de inserção deste fruto na fruticultura brasileira comercial.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo mostraram que os frutos da *Eugenia brasiliensis* Lamarck apresentam concentrações expressivas de minerais, açúcares, compostos fenólicos totais, taninos condensados, antocianinas totais, ácidos orgânicos, compostos fenólicos livres e conjugados e alta capacidade antioxidante, sendo dependentes do estágio de maturação, bem como também as regiões de cultivo.

A concentração de compostos nutricionais e bioativos da grumixama em diferentes estádios de maturação encontradas neste estudo são relevantes para elucidar a composição do fruto, fornecer informações que contribuam para a definição do estágio de maturação ideal para a colheita bem como a inserção em sistemas produtivos. De acordo com os resultados encontrados neste estudo, sugere-se o consumo do fruto no estágio 2 e 3 com maior conteúdo de compostos bioativos e nutricionais.

O incentivo na produção de frutos de grumixama pode ser uma fonte alternativa de renda para pequenos produtores, impulsionando a exploração deste fruto para consumo no Brasil *in natura* e processado. O consumo deste fruto é um importante contribuinte de compostos nutricionais e bioativos a dieta, além de contribuir para a preservação da biodiversidade de espécies nativas e manutenção do equilíbrio dos ecossistemas.

Ressalta-se a importância da realização de estudos futuros para agregar valor aos frutos grumixama com o objetivo de determinar a concentração de outros compostos nutricionais bem como isolar os compostos fenólicos majoritários, para avaliar a bioacessibilidade e efeitos *in vivo* em humanos, a fim de apresentar mais informações com melhor aproveitamento nutricional dos frutos e potencial benéfico à saúde.

REFERÊNCIAS

- AABY, K. et al. Phenolic compounds in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits: composition in 27 cultivars and changes during ripening. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 132, p. 86-97, 2012.
- ABE, L. T.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. I. Potential dietary sources of ellagic acid and other antioxidants among fruits consumed in Brazil: jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* Vell. Berg). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S. l.], v.92, p. 1679-1687, 2012.
- ADEYEMI, O. S.; OLADIJI, A. T. Compositional changes in banana (*Musa ssp.*) fruits during ripening. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 8, p. 858-859, 2009.
- AL-MAIMAN S. A.; AHMAD, D. Changes in physical and chemical properties during pomegrate (*Punica granatum* L.) fruit maturation. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 76, p. 437 – 441, 2002.
- ALEZANDRO, M.R. et. al.. Comparative study of chemical and phenolic compositions of two species of jaboticaba: *Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg and *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. **Food Research International**, [S. l.], v.54, p. 468-477, 2013.
- ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 2155-2159, 2011.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 115, p. 785-788, 2009.
- ALVES, C. Q. et al. Métodos para determinação de capacidade antioxidante in vitro em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, p. 2202-2210, 2010.
- ANTOLOVICH, M. et al. Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. **Analyst**, [S. l.], v. 125, p. 989-1009, 2000.

AOAC. Official methods of analysis (18th ed). Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists, 2005.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. 5 ed. Viçosa: Editora UFV, 2011. 601 p.

ARNOUS, A.; MAKRIS, D. P.; KELAFAS, P. Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 15, p. 655-665, 2002.

AZEVEDO, M. S. et al. *Screening* and determination of aliphatic organic acids in commercial Brazilian sugarcane spirits employing a new method involving capillary electrophoresis and a semi-permanent adsorbed polymer coating. **Food Research International**, [S. l.], v. 60, p. 123-130, 2014.

BAGETTI, M. Physicochemical characterization and antioxidant capacity of pitanga fruits (*Eugenia uniflora* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, p. 147-154, 2011.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant capacity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 99, p. 191-203, 2006.

BALTUSEN, E.; CRAMERS, C. A.; SANDRA, P. J. F. Sorptive sample preparation – a review. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [S. l.], v. 373, p. 3-22, 2002.

BASHIR, H. A.; ABU-GOUKH, A. A. Compositional changes during guava fruit ripening. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 80, p. 557-563, 2003.

BASTOS, C. et al. Chemical characterisation and bioactive properties of *Prunus avium* L.: the widely studied fruits and the unexplored stems. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 173, p. 1045-1053, 2015.

BATAGLION, G. A. Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 180, p. 280-287, 2015.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of – antioxidant power: The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 239, p. 70-76, 1996.

BERTO, A. et al. Proximate compositions, mineral contents and fatty acid compositions of native Amazonian fruits. **Food Research International**, [S. l.], v. 77, p. 441-449, 2015.

BEZERRA, J. E. F. et al. Comportamento da pitangueira (*Eugenia uniflora* L) sob irrigação na região do vale do rio Moxotó, Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, p. 177-179, 2004.

BOEING, J. S. et al. Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis. **Chemistry Central Journal**, [S. l.], v. 8, p. 1-9, 2014.

BORGES, G. et al. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 58, 9. 3901-3909, 2010.

BORGES, G. da S. C. et. al. Optimization of the extraction of flavonols and anthocyanins from the fruit pulp of *Euterpe edulis* using the response surface methodology. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 708-715, 2011.

BOROSKI, M. et al. **Antioxidantes princípios e métodos analíticos**. 1 ed. Appris: Curitiba, 2015. 141p.

BOURSCHEID, K. et. al. *Eugenia uniflora*. In: CORADIN, L; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul**. 1 ed. Brasília: MMA, 2011. p. 170-177.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant capacity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, [S. l.], v. 28, p. 25-30, 1995.

BRANDÃO, T. S. O. et al. Changes in enzymes, phenolic compounds, tannins, and vitamin C in various stages of jambolan (*Syzygium cumini* Lamark) development. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, p. 849-855, 2011.

CÂNDIDO, T. L. N.; SILVA, M. R.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 177, p. 313-319, 2015.

CARDOSO, L. de M. et. al. Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC) of the Cerrado of Minas Gerais, Brazil: physical and chemical characterization, carotenoids and vitamins. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 2151-2154, 2011.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 113, p. 859-871, 2009.

CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. 1 ed. Piracicaba: Editora Agrônômica Ceres, 2005. 650 p.

CELLI, G.B.; PEREIRA-NETTO, A.B.; BETA, T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant capacity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. **Food Research International**, [S. l.], v.44, p. 2442-2451, 2011.

ÇEVIK, N.; KIZILKAYA, B.; TÜRKER, G. The condensed tannin content of fresh fruits cultivated in Ida Mountains, Çanakkale, Turkey. **New Knowledge Journal of Science**, [S. l.], v. 2, p. 49-51, 2013.

CHEN, F.-X.; LIU, X.-L.; CHEN, L.-S. Developmental changes in pulp organic acid concentration and activities of acid-metabolising enzymes during the fruit development of two loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars differing in fruit acidity. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 114, p. 657-668, 2009.

CHEN, Q. et al. Identification and expression analysis of genes involved in anthocyanin and proanthocyanidin biosynthesis in the fruit of blackberry. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 14, p. 61-68, 2012.

CHITARRA, M.I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

COLE, R. A.; HABER, W. A.; SETZER, W. N. Chemical composition of essential oils of seven species of *Eugenia* from Monteverde, Costa Rica. **Biochemical Systematics and Ecology**, [S. l.], p. 877-886, 2007.

COLLA, A. R. S. et. al. Involvement of monoaminergic systems in the antidepressant-like effect of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) in the tail suspension test in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 143, p.720-731, 2012.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L., BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. 4 ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. 456 p.

COLOMBRA; R.; TAVARES, M. F.; MASSARO, S. Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, p. 512-518, 1997.

CONTRERAS-CALDERÓN, J. et al. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 2047-2053, 2011.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro –Região Sul**. 1 ed. Brasília: MMA, 2011, 934 p.

COTTA, J. A. O.; REZENDE, M. O . O.; LANDGRAF, M. D. Avaliação de solventes de extração por ultrassom usando-se cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em solos contaminados. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 2026-2033, 2009.

CROWE, F. L. et al. Fruit and vegetable intake and mortality from ischaemic heart disease: results from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC)-heart study. **European Heart Journal**, [S. l.], v. 32, p. 1235-1243, 2011.

DA SILVA, C. G. A.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, p. 665-676, 2011.

DA SILVA, N. A. et al. Phenolic compounds and carotenoids from four fruits native from the Brazilian Atlantic Forest. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 62, p. 5072-5084, 2014.

DAI, J.; MUMPER, R. J. Plant Phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules**, Basel, v. 15, p. 7313-7352, 2010.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 900 p.

DE LA ROSA, L. A.; ALVAREZ-PARRILLA, E.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. **Fruit and vegetable phytochemicals**. 1 ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2010. 382 p.

DE SOUZA, V. R. et al. Determination of bioactive compounds, antioxidant capacity and chemical composition of Cerrado Brazilian fruits. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 134, 9. 381-386, 2012.

DE SOUZA, V. R. et al. Determination of the bioactive compounds, antioxidant capacity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 156, p. 362-368, 2014.

DEMBITSKY, V. M. et al. The multiple nutrition properties of some exotic fruits: Biological capacity and active metabolites. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 1671-1701, 2011.

DENARDIN, C.C. et al. Antioxidant capacity and bioactive compounds of four Brazilian native fruits. **Journal of Food and Drug Analysis**, [S. l.], v. 23, p. 387-398, 2015.

DENT, M. et al. The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. **Food Technology and Biotechnology**, Zagreb, v. 51, p. 84-91, 2013.

DEVALAJARA, S.; JAIN, S.; YADAV, H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 1856-1865, 2011.

DIAS, C.N. et.al. Caracterização farmabotânica das folhas de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) coletadas em São Luís-MA, Brasil. **Revista Ciência Saúde**, Campinas, v.14, p.95-102, 2012.

DING, C.-K. et al. Metabolism of phenolic compounds during loquat fruit development. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 49, p. 2883-2888, 2001.

DONADO-PESTAÑA, C. M.; BELCHIOR, T.; GENOVESE, M. I. Phenolic compounds from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit prevent body weight and fat mass gain induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 77, p. 177-185, [S. l.]2015.

EL-CHAGHABY, G. A.; AHMAD, A. F.; RAMIS, E. S. Evaluation of the antioxidant and antibacterial properties of various solvents extracts of *Annona squamosa* L. leaves. **Arabian Journal of Chemistry**, King Saud, v. 7, p. 227-233, 2014.

FACHINELLO, J. C.; NACHTIGAL, J. C.; KERSTEN, E. **Fruticultura Fundamentos e Práticas**. 1 ed. Pelotas: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2008. 183 p.

FATIHA, B. et al. Optimisation of solvent extraction of antioxidants (phenolic compounds) from algerian mint (*Mentha spicata* L.). **Pharmacognosy Communications**, Bangalore, v. 2 , p. 72-86, 2012.

FAVARO, M. M. A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial como corantes**. 2008. 102 f.. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FAWOLE, O. A.; OPARA, U. L. Changes in physical properties, chemical and elemental composition and antioxidant capacity of pomegranate (cv. Ruby) fruit at five maturity stages. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 150, p. 37-46, 2013.

FERNANDES, I. et al. Bioavailability of anthocyanins and derivatives. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 7, p. 54-66, 2014.

FISHER, D. C. H.; KATO, E. T. M.; KONISHI, S. T. Pharmacognostic characterization of leaves and stem barks of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae). **Revista Brasileira Plantas Medicinais**, Paulinia, v.6, p.15-22, 2003.

FLORES, G. et. al. Anthocyanins from *Eugenia brasiliensis* edible fruits as potential therapeutics for COPD treatment. **Food Chemistry**, [S. l.], v.134, p.1256-1262, 2012.

FRANZON, R. C. Brasileiríssima, Cereja-do- mato. **Revista Frutas e Derivados**, São Paulo, v.11, p.48, 2008.

FRIGHETTO, N. et. al. Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v.15, n.4, p.338-343, 2005.

FU, Y. et al. Chemical composition and antioxidant capacity of Chinese wild raspberry (*Rubus hirsutus* Thunb.). **LWT – Food Science and Technology**, [S. l.], v. 60, p. 1262-1268, 2015.

GALLI, V. et al. Capillary electrophoresis for short-chain organic acids and inorganics anions in different samples. **Electrophoresis**, [S. l.], v. 24, p. 1951 – 1981, 2003.

GARMUS, T. T. et. al. Extraction of phenolic compounds from pitanga (*Eugenia uniflora* L.) leaves by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 86, p. 4-14, 2014.

GAWLIK-DZIKI U., SWIECA, M., SUGIER D. Enhancement of antioxidant abilities and the lipoxygenase and xanthine oxidase inhibitory capacity of broccoli sprouts by biotic elicitors. **Acta Scientiarum Polonorum**, [S. l.], v. 11, p. 13–25, 2012

GERVASIO, A. P. G. et al. Eletroforese capilar acoplada à espectrometria com plasma: uma ferramenta eficiente para a especiação. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, p. 65-74, 2003.

- GIL, M. I. et al. Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 50, p. 4976-4982, 2002.
- GIRARD, B.; KOPP, T. G. Physicochemical characteristics of selected sweet cherry cultivars. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, [S. l.], v. 46, p. 471-476, 1998.
- GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, [S. l.], F:F1:F1.2 2001.
- GLEW, R. H. et al. Changes in sugars, organic acids and amino acids in medlar (*Mespilus germanica* L.) during fruit development and maturation. **Food Chemistry**, [S. l.], v.83, p. 363-369, 2003.
- GOMES, Pimentel. **Fruticultura brasileira**. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1972. 446p.
- GONDIM, J. A. M. et. al. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 825-827, 2005.
- GORDON, A. et al. Chemical characterization and evaluation of antioxidant properties of açaí fruits (*Euterpe oleraceae* Mart.) during ripening. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 133, p. 256-263, 2012.
- GORISTEIN, S. et al. Comparative contents of dietary fiber, total phenolics, and minerals in persimmons and apples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 49, p. 952-957, 2001.
- GOULD, K.; DAVIES, K.; WINEFIELD, C. **Anthocyanins**. 1 ed. New York: Springer, 2009. 345 p.
- GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 509-530, 2006.

GROS, M.; PETROVIC, M.; BARCELÓ, D. Development of a multiresidue analytical methodology based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) for screening and trace level determination of pharmaceuticals in surface and wastewaters. **Talanta**, [S. l.], v. 70, p. 678-690, 2006.

HAMINIUK, C. W. I. et al. Chemical, antioxidant and antibacterial study of Brazilian fruits. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 46, p. 1529-1537, 2011 .

HAMINIUK, C. W. I. Phenolic compounds in fruits – an overview. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 47, p. 2023-2044, 2012.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 8 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012. 898 p.

HEMALI, P.; SUMITRA, C. Evaluation of antioxidant efficacy of different fractions of *Tagetes erecta* L. flowers. **Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, [S. l.], v. 9, p. 28-37, 2014.

HERRERO, M. et. al. Recent advances in the application of capillary electromigration methods for food analysis and foodomics. **Electrophoresis**, [S. l.], v. 31, p. 205-228, 2010.

HERVERT-HERNÁNDEZ, D. et al. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: importance of fruit and vegetable variety. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 1182-1189, 2011.

HO, L-H.; BHAT, R. Exploring the potential nutraceutical values of durian (*Durio zibethinus* L.) – An exotic tropical fruit. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 168, p. 80-89, 2015.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 1056 p.

HUA, Z. et al. Extraction and purification of anthocyanins from the fruit residues of *Vaccinium uliginosum* Linn. **Journal of Chromatography & Separation Techniques**, [S. l.], v. 4, p. 2-5, 2013.

HUANG, W.-Y. et al. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. **Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine and Technology)**, [S. l.], v. 13, p. 94-102, 2012.

HUI, Y. H. et al. **Handbook of fruits and fruit processing**. 1 ed. Iowa:Blackwell Publishing, 2006. 688 p.

HUSSEIN, S. A. M. et. al. Polyoxygenated flavonoids from *Eugenia edulis*. **Phytochemistry**, [S. l.], v. 64, p. 883-889, 2003.

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 126, p. 1821-1835, 2011.

IMEH. U.; KHOKHAR. S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant capacity and cultivar variations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 50, p. 6.301- 6.306, 2002.

INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 17, p. 422-433, 2015.

ISABELLE, M. et al. Antioxidant capacity and profiles of common fruits in Singapore. **Food Chemistry**, [S. l.]. v. 123, p. 77-84, 2010.

JAAKOLA, L. et al. Expression of genes involved in anthocyanin biosynthesis in relation to anthocyanin, proanthocyanidin, and flavonol levels during bilberry fruit development. **Plant Physiology**, [S. l.], v. 130, p. 729-739, 2002.

JACQUES, A. C. et al. Estabilidade de compostos bioativos em polpa congelada de amora-preta (*Rubus fruticosus*) cv. Tupy. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, p. 1720-1725, 2010.

KADER, A. A. Fruit maturity, ripening and quality relationships. **Acta Horticulture**, [S. l.], v. 485, p. 203-208, 1999.

KADER, A. A. et al. Perspective flavor quality of fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [S. l.], v. 88, p. 1863-1868, 2008.

KAFKAS, E. et al. Analysis of sugars, organic acids and vitamin C contents of blackberry genotypes from Turkey. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 97, p. 732-736, 2006.

KÄHKÖNEN, M. P.; HOPIA, A. I.; HEINOCHEN, M. Berry phenolics and their antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 49, p. 4076-4082, 2001.

KIM, D-O. et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 50, p. 3713-3717, 2002.

KLAMPFL, C.W.; BUCHBERGER, W.; HADDAD, P.R. Determination of organic acids in food samples by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 881, p. 881 – 357, 2000.

KOBLITZ, M. G. B. **Bioquímica de Alimentos**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 242 p.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas Alimentícias**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 301 p.

KOHAMA, S. et. al. Secagem e armazenamento de sementes de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Grumixameira). **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v. 28, p. 72-78, 2006.

KONCZAK, I.; ROULLE, P. Nutritional properties of commercially grown native australian fruits: lipophilic antioxidants and minerals. **Food Research International**, [S. l.], v. 44, p. 2339-2344, 2011.

KOSAR, M. et al. Phenolic composition of strawberry genotypes at different maturation stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 49, p. 4076-4082, 2004.

KRUGER, E. et al. Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, [S. l.], v. 60, p. 31-37, 2011.

KULKARNI, A. P.; ARADHYA, S. M. Chemical changes and antioxidant capacity in pomegranate arils during fruit development. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 93, p. 319-324, 2005.

KUMAR, S.; PANDEY, A. K. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. **The Scientific World Journal**, [S. l.], v. 1, p. 1-15, 2013.

KUSKOSKI, E. M. et al. Characterization of anthocyanins from the fruits of baguaçu (*Eugenia umbelliflora* Berg). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 51, p. 5450-5454, 2003.

LEE, Y.-H.; LIN, T.-I. Determination of carbohydrates by high-performance capillary electrophoresis with indirect absorbance detection. **Journal of Chromatography B Biomedical Sciences and Applications**, [S. l.], v. 681, p. 87-97, 1996.

MARTINS, S. et al. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 29, p. 365-373, 2011.

MATO, I. et al. Simultaneous determination of organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 565, p. 190-197, 2006.

MEINHART, A. D. **Desenvolvimento de metodologia para separação de carboidratos predominantes em alimentos por eletroforese capilar**. 2010. 179 p. Tese em Ciência dos Alimentos. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP, 2010.

MIRDEHGHAN, S. H.; RAHEMI, M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 111, p. 120-127, 2007.

MOZETIC, B. et al. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). **LWT**, [S. l.], v. 37, p. 123-128, 2004.

LACORTE, S.; FERNANDEZ-ALBA, A. M. Time of flight mass spectrometry applied to the liquid chromatography analysis of pesticides in water and food. **Mass Spectrometry Reviews**, [S. l.], v. 25, p. 866-880, 2006.

LAGO, J.H.G. et. al. Chemical and Biological Evaluation of essential oils from two species of Myrtaceae – *Eugenia uniflora* L. and *Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel. **Molecules**, Basel, v.16, p. 9827-9837, 2011.

LAI, J. F.; FRANKE, A. A. Analysis of circulating lipid-phase micronutrients in humans by HPLC: Review and overview of new developments. **Journal of Chromatography B**, [S. l.], v. 931, p. 23-41, 2013.

LATTUADA, D. S. et al. Enxertia herbácea em Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, p. 1285-1288, 2010.

LEITE, L. L.; L. Introdução. In: Coradin, L; Siminski, A.; REIS, A. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul. 1 ed. Brasília: MMA, 2011. p. 19-22.

LIMA, A. J. B. et al. Sugars, organic acids, minerals and lipids in jaboticaba. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 540-550, 2011.

LIMA, A. M. B.; D'AVILA, L. A.; SIANI, A. C. Comparision between methyl and trimethylsilyl ester derivatives in the separation and GC quantification of triterpene acids in *Eugenia brasiliensis* leaf extract. **Chromatographia**, [S. l.], v. 77, p. 629-635, 2014.

LISBOA, G. N.; KINUPP, V. F.; BARROS, I. B. I. *Eugenia involucrata*. In: Coradin, L; Siminski, A.; REIS, A. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul. 1 ed. Brasília: MMA, 2011. p. 163-166.

LIU, H.; CAO, J.; JIANG, W. Changes in phenolics and antioxidant property of peach fruit during ripening and responses to 1-methylcyclopropene. **Postharvest Biology and Technology**, [S. l.], v. 108, p. 111-118, 2015.

LORENZI, H. et. al. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas (de consumo in natura)**. 1ed. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006. 640p.

LOU, H. et al. Nondestructive evaluation of the changes of total flavonoid, total phenols, ABTS and DPPH radical scavenging activities, and sugars during mulberry (*Morus alba* L.) fruits development by chlorophyll fluorescence and RGB intensity values. **LWT – Food Science and Technology**, [S. l.], v. 47, p. 19-24, 2012.

MACHEIX, J.-J.; FLEURIET, A.; BILLOT, J. **Fruit phenolics**. 1 ed. Boca Raton: CRC, 1990. 392 p.

MAGALHAES, L. M. et al. Methodological aspects about in vitro evaluation of antioxidante properties. **Analytica Chimica Acta**, [S. l.], v. 613, p. 1-19, 2008.

MAGINA, M. D. A.; DALMARCO, E. M.; DALMARCO, J. B. Bioactive triterpenes and phenolics of leaves of *Eugenia brasiliensis*. **Química Nova**, São Paulo, v.35, p. 1184-1188, 2012.

MALTA, L. G. et al. *In vivo* analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. **Food Research International**, [S. l.], v. 49, p. 604-611, 2012.

MARÇO, P. H.; POPPI, R. J.; SCARMINIO, I. S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 1218-1223, 2008.

MATO, I. et al. Simultaneous determination of organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis. **Analytical Chimica Acta**, [S. l.], v. 565, p. 190-197, 2006.

MATO, I.; SUARÉS-LUQUE, S.; HUIDOBRO, J. F. Simple determination of main organic-acids in grape juice and wine by using capillary zone electrophoresis with direct detection. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 102, p. 104-112, 2007.

MAZINE, F. F.; SOUZA, V.C. A new species of *Eugenia* (Myrtaceae) from north-eastern Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [S. l.], v. 158, p. 775-777, 2008.

MELO, E. de A. et al. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.44, p. 193-201, 2008.

MERTZ, C. et al. Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by high-performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray ion trap mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 55, p. 8616-8624, 2007.

MIGLIATO, K. F. et. al. Planejamento experimental na otimização da extração dos frutos de *Syzygium cumini* L. Skeels. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, p. 695-699, 2011.

MIKULIK-PETKOVSEK, M. et al. HPLC–MSⁿ identification and quantification of flavonol glycosides in 28 wild and cultivated berry species. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 135, p. 2138-2146, 2012.

MIRDEHGHAN, S. H.; RAHEMI, M. Seasonal changes of mineral nutrients and phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 111, p. 120-127, 2007.

MONTEIRO, J. M. et. al. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, São Paul, v. 28, p. 892-896, 2005.

MORENO, P. R. H. et. al. Essential oil composition of fruit colours varieties of *Eugenia brasiliensis* Lam. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, p.428-432, 2007.

MOYER, R. A. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 49, p. 4076-4082, 2002.

MOZETIC, B. et al. Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). **LWT – Food Science and Technology**, [S. l.], v. 37, p. 123-128, 2004.

MUÑOZ-ROBREDO, P. et al. Characterization of sugars and organic acids in commercial varieties of table grapes. **Chilean Journal of Agricultural Research**, Chileán, v. 71, p. 452-458, 2011.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1054, p. 95-111, 2004.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [S. l.], v. 41, p. 1523-1542, 2006.

NEO, Y.-P. Phenolic acid analysis and antioxidant capacity assessment of oil palm (*E. guineensis*) fruit extracts. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 122, p. 353-359, 2010.

NERI-NUMA, I. A. et. al. Evaluation of the antioxidant, antiproliferative and antimutagenic potential of araçá-boi fruit (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh — *Myrtaceae*) of the Brazilian Amazon Forest. **Food Research International**, [S. l.], v. 50, p. 70-76, 2013.

NIKI, E. Assessment of antioxidant capacity *in vitro* and *in vivo*. **Free Radical Biology & Medicine**, [S. l.], v. 49, p. 503-515, 2010.

OLIVEIRA, A. C. de.; VALENTIM, I. B.; GOULART, M. O. F. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 689-702, 2009.

ORNELAS-PAZ, J. J. et al. Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 138, p. 372-381, 2013.

PANDE, G.; AKOH, C. C. Organic acids, antioxidant capacity, phenolic content and lipid characterisation of Georgia-grown underutilized fruit crops. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 120, p. 1067-1075, 2010.

PANTEDILIS, G. E. Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and Cornelian cherries. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 102, p. 777-783, 2007.

PASCUAL-TERESA, S. de.; SANCHEZ-BALLESTA, M. T. Anthocyanins: from plant to health. **Phytochemistry Reviews**, v. 7, p. 281-299, 2008.

PATIL, B. S. et al. Bioactive compounds: historical perspectives, opportunities, and challenges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 57, p. 8142-8160, 2009.

PAZ, M. et al. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 172, p. 462-468, 2015.

PEREIRA, M. E. et al. Characterization and antioxidant potential of Brazilian fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 60, p. 3061-3067, 2012.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization, bioactive compounds and antioxidant potential of three Brazilian fruits. **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 29, p. 19-24, 2013.

PEREIRA, M. C. et. al. Mineral characterization of native fruits from the Southern region of Brazil. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, p. 258-266, 2014.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J. et al. Updated methodology to determine antioxidant capacity in plant foods, oils and beverages: Extraction, measurement and expression of results. **Food Research International**, [S. l.], v. 41, p. 274-285, 2008.

PIETROVSKI, E. F. et. al. Topical anti-inflammatory capacity of *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) leaves. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [S. l.], v. 60, p.479-787, 2008.

PORTES, L. Corrida à prateleira. **Revista Frutas e Derivados**, São Paulo, v.12, p.48, 2009.

PRASANNA, V.; PRABHA; T. N.; THARANATHAN; R. N. Fruit ripening phenomena—An Overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 47, p. 1-19, 2007.

PRICE, M. L.; SCOYOC, S. V.; BUTLER, L. G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 26, p. 1214-1218, 1978.

RAMIREZ, M. R. et al. Evaluation of the polyphenolic content, anti-inflammatory and antioxidante activities of total extract from *Eugenia pyriformes* Cambess (uvaia) fruits. **Journal of Food Biochemistry**, [S. l.], v. 36, p. 405-412, 2012.

REQUE, P. M. et al. Characterization of blueberry fruits (*Vaccinium* spp.) and derived products. **Food Science and Technology**, v. 34, p. 773-779, 2014.

REYNERTSON, K. A. et. al. Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. **Food Chemistry**, Campinas, v. 109, p. 883–890, 2008.

RIVASSEAU, C. et. al. Rapid analysis of organic acids in plant extracts by capillary electrophoresis with indirect UV detection: directed meabolic analyses during metal stress. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1129, p. 283-290, 2006.

RIZELIO, V. M. et al. Fast determination of cations in honey by capillary electrophoresis: A possible method for geographic origin discrimination. **Talanta**, [S. l.], v. 99, p. 450-456, 2012a.

RIZELIO, V. M. et al. Development of a fast capillary electrophoresis method for determination of carbohydrates in honey samples. **Talanta**. [S. l.], v. 93, p. 62-66, 2012b

RIZVI, S. S. H. **Separation, extraction and concentration processes in the food, beverage and nutraceutical industries**. 1 ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2010. 694 p.

ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do Cerrado. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 1215-1221, 2011.

ROMAGNOLO, M. B.; SOUZA, M. C. de. O gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície de alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta Botânica Brasileira**, Belo Horizonte, v. 20, p. 529-548, 2006.

ROP, O. et al. Effect of five different stages of ripening on chemical compounds in medlar (*Mespilus germanica* L.). **Molecules**, Basel, v. 16, p. 74-91, 2011.

ROSSO, V. V. de. Bioactivities of Brazilian fruits and the antioxidant potential of tropical biomes. **Food and Public Health**, [S. l.], v.3, p. 37-51, 2013.

ROVIO, S. et al. Determination of the carboxylic acids in acidic and basic process samples by capillary zone electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, [S. l.], v. 1217, p. 1407-1413, 2010.

RUFINO, M. do S. M. et. al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, [S. l.], v.121, p. 996-1002, 2010.

SARMENTO, M. B.; SILVA, A. C. S. da, SILVA, C. S. da. Recursos genéticos de frutas nativas da família Myrtaceae no Sul do Brasil. **Magistra**, v.24, n.4, p.250-262, 2012.

SARTORI, S. F. **Grumixama**. 1 ed. Jaboticabal: Funep, 2012, 28 p.

SCALON, S. de P. Q. et. al. Sensibilidade à dessecação e ao armazenamento em sementes de *Eugenia pyriformes* Cambess (uvaia). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, p. 269-276, 2012.

SEERAM, N. P. et al. Identification of phenolic compounds in strawberries by liquid chromatography electrospray ionization mass spectroscopy. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 97, p. 1-11, 2006.

SERRANO, M. et al. Chemical constituents and antioxidant activity of sweet cherry at different ripening stages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], mv. 53, p. 2741-2745, 2005.

SILVA, C. V., et al. Fracionamento e germinação de sementes de uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess - Myrtaceae). **Revista brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, p.213-221, 2003.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, [S. l.], v. 16, p. 144-158, 1965.

SINHA, N. K. et al. Handbook of fruits and fruit processing. 2 ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2012. 694 p.

SHAHIDI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidante capacity. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 18, p. 757-781, 2015.

SHARMA, O.P.; BHAT, T.K. DPPH antioxidant assay revisited. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 113, p. 1201-1205, 2009.

SCHERER, R.; RYBKA, A. C. P.; GODOY, H. T. Determinação simultânea dos ácidos orgânicos tartárico, málico, ascórbico e cítrico em polpas de acerola, açaí e caju e avaliação da estabilidade em sucos de caju. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, p. 1137-1140, 2008.

SCHERER, R. et al. Validation of a HPLC method for simultaneous determination of main organic acids in fruits and juices. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 135, p. 150-154, 2012.

SCHULZ, M. et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, [S. l.], v. 77, p. 125-131, 2015.

SHWARTZ, E. et al. Changes in chemical constituents during the maturation and ripening of two commercially important pomegranate accessions. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 115, 965-973, 2009.

SELLAPAN, S.; AKOH, C. C.; KREWER, G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 50, p. 2432-2438, 2002.

SIEBERT, D. A. et al. Evaluation of seasonal chemical composition, antibacterial, antioxidant and anticholinesterase capacity of essential oil from *Eugenia brasiliensis* Lam. **Natural Product Research**, [S. l.], v. 29, p. 289-292, 2015.

SINGH, J. P. et al. Characterization of different *Syzygium cumini* Skeels accessions based on physico-chemical attributes and phytochemical investigations. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 7, p. 158-164, 2015.

SOGA, T. e SERWE, M. Determination of carbohydrates in food samples by capillary electrophoresis with indirect UV detection. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 69, p. 339- 344, 2000.

SOUZA-SARTORI, J. A. de. et. al. Parâmetros de influência na extração de compostos fenólicos de partes aéreas da cana-de-açúcar com capacidade antioxidante total. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, p. 297-307, 2013.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica Sistemática. 3ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2012. 768 p.

STALIKAS, C. D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. **Journal of Separation Science**, [S. l.], v. 30, p. 3268-3295, 2007.

STAVANG, J. A. et al. Raspberry fruit quality changes during ripening and storage as assessed by colour, sensory evaluation and chemical analyses. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 195, p. 216-225, 2015.

STEFANELLO, M. E. A.; PASCOAL, A. C. R. F.; SALVADOR, M. J. Essential oils from Neotropical *Myrtaceae*: Chemical diversity and biological properties. **Chemistry & Biodiversity**, [S. l.], v. 8, p. 73-94, 2011.

STURM, K.; KORON, D.; STAMPAR, F. The composition of fruit of different strawberry varieties depending on maturity stage. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 83, p. 417-422, 2003.

SUGUINO, E. et. al. Efeito da porosidade do substrato casca de pínus no desenvolvimento de mudas de grumixameira. **Revista Brasileira Fruticultura**, São Paulo, volume E, p. 643-648, 2011.

SUN, J. et al. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 50, p. 7449-7454, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 848 p.

TAVARES, M. F. M. Mecanismos de separação em eletroforese capilar. **Química Nova**, São Paulo, v. 20, p. 493-511, 1997.

TEIXEIRA, L.de L. et al. Identification of ellagitannins and flavonoids from *Eugenia brasilienses* Lam. (Grumixama) by HPLC-ESI-MS/MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 63, p. 5417-5427, 2015.

TLILI, N. et al. Variation in protein and oil content and fatty acid composition of *Rhus tripartitum* fruits collected at different maturity stages in different locations. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 59, p. 197-201, 2014.

TUCKER, G.A. Introduction. *In*: Seymour, G.B.; Taylor, J.E.; Tucker, G.A. **Biochemistry of fruit ripening**. Crambridge: Chapman & Hall, Cambridge. p.1-51

TÜRKER, G. et al. Free radical scavenging capacity and phenolic content of edible wild fruits from Kazdagi (Ida Mountains), Turkey. **Journal of Medicinal Plants Research**, [S. l.], v. 6, p. 4989-4994, 2012.

USENIK, V.; FABCIC, J.; STAMPAR, F. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant capacity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Food Chemistry**, [S. l.], v. 107, p. 185-192, 2008.

USENIK, V. The effect of fruit size and fruit colour on chemical composition in 'Kordia' sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [S. l.], v. 38, p. 121-130, 2015.

VARANDAS, S. et al. Glucose and fructose levels on grape skin: interference in *Lobesia botrana* behaviour. **Analytical Chimica Acta**, [S. l.], v. 513, p. 351-355, 2004.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic Compound Biochemistry**. 1 ed. New York: Springer, 2008. 284 p.

VETRANI, C. et al. Nutrition and oxidative stress: a systematic review of human studies. **International Journal of Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 1, p. 1-15, 2012.

VIEIRA, R. F. et. al. **Frutas nativas da região Centro-Oeste**. 1 ed. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2006.

VILLAREAL-LOZOYA, J. E.; LOMBARDINI, L.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Phytochemical constituents and antioxidant capacity of different pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch] cultivars. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 102, p. 1241-1249, 2007.

VILLANUEVA, M. J. et al. Compositional changes during ripening of two cultivars of muskmelon fruits. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 87, p. 179-185, 2004.

WOOTTON-BEARD, P. C.; RYAN, L. A beetroot juice shot is a significant and convenient source of bioaccessible antioxidants. **Journal of Functional Foods**, [S. l.], v. 3, p. 329-334, 2011.

ZAINUDIN, M. A. M. et al. Variation of bioactive compounds and antioxidant capacity of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruit at different ripening stages. **Scientia Horticulturae**, [S. l.], v. 172, p. 325-331, 2014.

ZHAO, J. et al. Changes in sugars and organic acids in wolfberry (*Lycium barbarum* L.) fruit during development and maturation. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 173, p. 718-724, 2015.

ZHENG, W.; WANG, S. Y. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 51, p. 502-509, 2003.